

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Untersuchung über das Vorkommen von PCV2-DNA
in der Umgebung von Mastschweinen und die Auswirkungen
von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen
auf den Nachweis viraler DNA

von Sarah Kalitowitsch
aus Sassenberg

München 2021

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Priv.-Doz. Dr. Matthias Eddicks

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Monika Rinder

Tag der Promotion: 06.02.2021

Meinem Vater

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|-------------|---|-----------|
| I. | EINLEITUNG..... | 1 |
| II. | LITERATURÜBERSICHT | 3 |
| 1. | Porzines Circovirus Typ 2..... | 3 |
| 1.1. | Historischer Überblick..... | 3 |
| 1.2. | Taxonomie und Morphologie | 4 |
| 1.3. | Eigenschaften und Tenazität | 4 |
| 1.4. | Ausscheidung von PCV2..... | 5 |
| 1.4.1. | Ausscheidung über respiratorische sowie orale Sekrete, Kot und Urin..... | 5 |
| 1.4.2. | Einflussfaktoren auf die ausgeschiedene Virusmenge | 6 |
| 1.5. | Erregerübertragung..... | 8 |
| 1.5.1. | Horizontale Übertragung..... | 8 |
| 1.5.2. | Vertikale Übertragung | 9 |
| 1.5.3. | Einflussfaktoren auf die Übertragung..... | 10 |
| 2. | Nachweis von PCV2-DNA | 11 |
| 2.1. | Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) | 11 |
| 2.2. | Nachweisbarkeit in unterschiedlichen Probenmaterialien | 12 |
| 2.3. | Nachweis in der Umgebung | 12 |
| 3. | Reinigung und Desinfektion | 13 |
| 3.1. | Reinigung in Schweineställen..... | 14 |
| 3.2. | Effekt der Reinigung auf die virale Kontamination in der Umgebung | 15 |
| 3.3. | Desinfektion in der Nutztierhaltung | 15 |
| 3.4. | Desinfektion gegen Viren | 16 |
| 3.4.1. | Desinfektion von PCV2 | 17 |
| 3.4.2. | Desinfektion anderer Viren..... | 18 |
| III. | MATERIAL UND METHODEN | 21 |
| 1. | Ziel der Untersuchung | 21 |
| 2. | Versuchsaufbau | 21 |
| 2.1. | Auswahl der untersuchten Betriebe | 21 |
| 2.2. | Studiendesign | 22 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 2.3. | Studienbetriebe | 23 |
| 3. | Probennahme | 23 |
| 3.1. | Wischproben | 24 |
| 3.2. | Beprobte Gegenstände | 25 |
| 3.2.1. | Futtertröge..... | 25 |
| 3.2.2. | Buchtenwände | 25 |
| 3.2.3. | Nippeltränken..... | 26 |
| 3.2.4. | Beschäftigungsmaterial | 26 |
| 3.2.5. | Stiefel..... | 26 |
| 3.2.6. | Treibbrett..... | 26 |
| 3.3. | Verarbeitung und Lagerung der Proben | 26 |
| 4. | Erfassung der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen..... | 27 |
| 5. | Molekularbiologische Untersuchungen..... | 28 |
| 5.1. | Extraktion viraler DNA | 28 |
| 5.2. | Pan-PCV2-qPCR | 29 |
| 6. | Statistische Auswertung..... | 30 |
| IV. | ERGEBNISSE | 31 |
| 1. | Deskriptive Auswertung der Studienbetriebe..... | 31 |
| 1.1. | Betriebsform..... | 31 |
| 1.2. | Betriebsmanagement..... | 31 |
| 1.3. | Ergebnisse der Voruntersuchung mittels Oral Fluids..... | 31 |
| 1.4. | Reinigung | 32 |
| 1.5. | Desinfektion..... | 34 |
| 2. | Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung..... | 36 |
| 2.1. | Auswertung aller Proben | 36 |
| 2.2. | Vergleichende Auswertung der Ergebnisse aus der ersten und der zweiten Beprobung..... | 38 |
| 2.3. | Deskriptive Auswertung auf Ebene der Betriebe | 39 |
| 2.3.1. | Betrieb 1 | 40 |
| 2.3.2. | Betrieb 2 | 40 |
| 2.3.3. | Betrieb 3 | 41 |
| 2.3.4. | Betrieb 4 | 42 |
| 2.3.5. | Betrieb 5 | 43 |

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 2.3.6. | Betrieb 6 | 44 |
| 2.3.7. | Betrieb 7 | 45 |
| 2.3.8. | Betrieb 9 | 46 |
| 2.3.9. | Betrieb 10 | 47 |
| 2.3.10. | Betrieb 11 | 48 |
| 2.3.11. | Graphische Übersicht aller Ergebnisse | 49 |
| 2.4. | Korrelation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und den ungereinigten Mastabteilen | 51 |
| 2.5. | Korrelation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und der Desinfektion der Mastabteile | 53 |
| 2.6. | Auswertung auf Ebene der untersuchten Gegenstände | 55 |
| 2.6.1. | Futtertröge | 55 |
| 2.6.2. | Buchtenwände | 57 |
| 2.6.3. | Nippeltränken | 59 |
| 2.6.4. | Beschäftigungsmaterialien | 61 |
| 2.6.5. | Stiefel | 63 |
| 2.6.6. | Treibbretter | 65 |
| V. | DISKUSSION | 67 |
| 1. | Eignung von Wischproben für den Nachweis von PCV2-DNA aus der Umgebung | 67 |
| 2. | Nachweis PCV2-spezifischer Genomfragmente | 71 |
| 3. | Auswahl der PCV2-positiven Betriebe | 73 |
| 4. | Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung | 75 |
| 4.1. | PCV2-DNA Nachweis zum Zeitpunkt des Ausstallens | 75 |
| 4.2. | Einfluss der Reinigung und Desinfektion auf den Nachweis von PCV2-DNA in den Mastställen | 81 |
| VI. | ZUSAMMENFASSUNG | 85 |
| VII. | SUMMARY | 87 |
| VIII. | TABELLENVERZEICHNIS | 89 |
| IX. | ABBILDUNGSVERZEICHNIS | 93 |
| X. | LITERATURVERZEICHNIS | 95 |

| | | |
|-------------|------------------------|------------|
| XI. | ANHANG..... | 107 |
| XII. | DANKSAGUNG..... | 109 |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|-----------------|---|
| °C | Grad Celsius |
| µl | Mikroliter |
| APP | <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> |
| ASPV | Afrikanisches Schweinepest Virus |
| bar | Druck |
| cm | Zentimeter |
| cm ² | Quadratzentimeter |
| Ct | Cycle threshold |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure (desoxyribonucleic acid) |
| DVG | Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft |
| E. coli | <i>Escherichia coli</i> |
| G | Erdbeschleunigung |
| IAV | Influenza-A-Virus |
| k.A. | keine Angaben |
| KSPV | Klassische Schweinepest Virus |
| M. hyo | <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> |
| Max | Maximum |
| min | Minuten |
| Min | Minimum |
| MKSV | Maul- und Klauenseuche Virus |
| ml | Milliliter |
| MW | Mittelwert |
| n | Anzahl |
| nm | Nanometer |
| n.n. | nicht nachgewiesen |
| OF | Oral Fluid |
| ORF 1 | Open-Reading-Frame 1 |

| | |
|--------------|--|
| ORF 2 | Open-Reading-Frame 2 |
| ORF 3 | Open-Reading-Frame 3 |
| p | Signifikanzwert |
| p.i. | <i>post infectionem</i> |
| PBS | Phosphat-gepufferte Salzlösung (Phosphate-Buffered-Saline) |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| PCV | porzines Circovirus |
| PCV1 | porzines Circovirus Typ 1 |
| PCV2 | porzines Circovirus Typ 2 |
| PMWS | Post-weaning multisystemic wasting syndrome |
| PRRSV | <i>porcine reproductive and respiratory syndrome virus</i> |
| qPCR | quantitative Polymerasekettenreaktion |
| r | Korrelationskoeffizient nach Pearson |
| RNA | Ribonukleinsäure (ribonucleic acid) |
| SD | Standardabweichung |
| sec | Sekunden |
| TierSchNutzV | Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung |
| U | Umdrehungen |

I. EINLEITUNG

Das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) wird über verschiedene Se- und Exkrete infizierter Schweine ausgeschieden (SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS et al., 2005a; ROSE et al., 2012). Dabei hängt die Menge an ausgeschiedenem Virus maßgeblich davon ab, ob die Tiere klinisch erkrankt oder subklinisch infiziert sind (SEGALÉS et al., 2005a). Die ausgeschiedene Virusmenge in Nasensekret und Kot von Schweinen steigt bis zu einem Alter von 3 - 4 Monaten an und ist zu diesem Zeitpunkt am höchsten (SHIBATA et al., 2003). Auch noch 69 Tage nach der Infektion kann PCV2 in großen Mengen in nasalen, oralen und fäkalen Ausscheidungen nachgewiesen werden (PATTERSON et al., 2011a).

Die horizontale Übertragung von PCV2 durch den direkten Kontakt zwischen Tieren wird als bedeutendster Weg der Verbreitung des Virus angesehen (MADEC et al., 2008; ROSE et al., 2012). Vor allem der nasale Kontakt zwischen empfänglichen und infizierten Tieren innerhalb einer Bucht und der Kontakt zu infiziertem Kot und Urin sind primäre Übertragungswege (DUPONT et al., 2009). Auch durch eine intermittierende PCV2-Ausscheidung in Nasensekret und Kot persistenter infizierter Schweine ist das Übertragungsrisiko für Schweine derselben Bucht deutlich erhöht (GRAU-ROMA et al., 2009). Der indirekten Übertragung über den Kontakt zu kontaminierten Gegenständen oder Geräten wird ebenfalls eine Bedeutung zugesprochen (DUPONT et al., 2009).

Konkrete Empfehlungen hinsichtlich einer effektiven Inaktivierung von PCV2-kontaminierten Flächen in der Schweinehaltung durch Desinfektionsmittel liegen nicht vor (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT, 2020). Zusammen mit der Reinigung ist die Desinfektion die wichtigste Maßnahme zur Verhinderung der Übertragung von Erregern zwischen den Tiergruppen (PRANGE, 2004).

Ziel der vorliegenden Studie ist es, zu eruieren, wie hoch das Risiko einer PCV2-Infektion in gereinigten und desinfizierten Mastställen für eine neu eingestellte Tiergruppe ist und zu ermitteln, welche Bereiche die größte PCV2-Kontamination vorweisen. Weiterhin soll untersucht werden, ob die betriebsinternen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen eine Reduzierung des PCV2-DNA-Vorkommens erzielen können. Dazu werden verschiedene Einrichtungsgegenstände und Arbeitsmittel in PCV2-positiven Betrieben durch Wischproben untersucht und mittels einer quantitativen PCR auf PCV2-spezifische Genomfragmente untersucht.

Beruhend auf den wissenschaftlichen Untersuchungen der Übertragungswege des Virus wird erwartet, dass die PCV2-Belastung an Gegenständen, die mit Kot und Speichel der Schweine in Berührung kommen besonders groß ist. Des Weiteren sollte der Schritt der Reinigung, durch den ein Großteil des Kotes und andere organische Ausscheidungen beseitigt werden maßgeblich dazu beitragen, die PCV2-Belastung in der Umgebung zu reduzieren und somit das Übertragungsrisiko für eine neu eingestellte Tiergruppe zu senken.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Porzines Circovirus Typ 2

1.1. Historischer Überblick

Das porcine Circovirus (PCV) wird erstmals 1974 als Kontaminant in einer Schweinenierenzelllinie (PK-15) von TISCHER et al. (1974) nachgewiesen und aufgrund seiner Ähnlichkeit als Papova- oder Picornavirus-ähnliches Virus beschrieben. Weitere Untersuchungen des Forscherteams ergeben, dass das Virus eine zirkulär geschlossene DNA besitzt und Antikörper ausschließlich in Schweinen nachgewiesen werden können, sodass sie dem Virus den Namen porcines Circovirus (PCV) geben (TISCHER et al., 1982). Zu diesem Zeitpunkt zeigen experimentelle Infektionen von Schweinen, dass es weder zu einer klinischen Erkrankung, noch zur Ausprägung pathologischer Veränderungen durch das Virus kommt (TISCHER et al., 1986; ALLAN et al., 1998).

Einen Zusammenhang von PCV mit klinischen Fällen stellen HARDING und CLARK (1997) erstmals in den 90er Jahren in Kanada und den USA her. Für das neu aufgetretene Erkrankungsbild, welches klinisch vor allem bei Ferkeln in der 5. bis 8. Lebenswoche ausgeprägt ist und u.a. mit progressivem Gewichtsverlust, Kümern und Dyspnoe einhergeht, wird der Name post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) eingeführt (HARDING und CLARK, 1997). Weitere derartige Fälle treten kurz darauf auch in Europa auf (SEGALES et al., 1997). Der vermutete Zusammenhang wird durch ELLIS et al. (1998) bestärkt. Sie können mittels Immunohistochemie und elektronenmikroskopischen Untersuchungen in verschiedenen Geweben erkrankter Schweine kleine unbehüllte Viruspartikel nachweisen, die sie als Circovirus-ähnlichen Erreger identifizieren (ELLIS et al., 1998).

MEEHAN et al. (1998) vergleichen die Sequenzen des neuen Circovirus-ähnlichen Isolats mit denen des bereits bekannten Isolats der PK-15 Zellkultur und finden eine 20 prozentige Abweichung in der Nukleotidabfolge. Daraufhin wird das 1974 entdeckte Virus

porzines Circovirus Typ 1 (PCV1) und das mit PMWS in Verbindung gebrachte, pathogene Virus porzines Circovirus Typ 2 (PCV2) genannt (MEEHAN et al., 1998).

1.2. Taxonomie und Morphologie

PCV2 gehört der Familie der *Circoviridae* an (LUKERT et al., 1995). Diese Virusfamilie beinhaltet neben der Gattung Cyclovirus (ROSARIO et al., 2017) die Gattung Circovirus, der die porzinen Circoviren zugeordnet werden (MEEHAN et al., 1998).

PCV2 ist ein unbehülltes Virus, dessen Genom aus einer zirkulär geschlossenen Einzelstrang-DNA besteht (TISCHER et al., 1982). Das Genom umfasst 1768 Nukleotide (HAMEL et al., 1998) und wird von dem Viruskapsid umschlossen. Dieses wird aus 60 identischen, ikosaedrisch angeordneten Untereinheiten gebildet (CROWTHER et al., 2003). Der Durchmesser wird, abhängig von den Untersuchungsergebnissen der Autoren, mit 17 nm (TISCHER et al., 1982) oder 20,5 nm (CROWTHER et al., 2003) beschrieben. Das Genom untergliedert sich in elf open reading frames (ORF) (HAMEL et al., 1998). Bisher konnte nur für drei dieser ORFs eine Proteinsynthese beschrieben werden (SEGALÉS, 2012): ORF 1 kodiert die Replikationsproteine Rep und Rep' (HAMEL et al., 1998), ORF 2 kodiert die Kapsid bildenden Proteine (NAWAGITGUL et al., 2000), ORF 3 kodiert ein Protein, welches im Rahmen der Pathogenese an der virus-induzierten Apoptose von Wirtszellen beteiligt ist (LIU et al., 2005; LIU et al., 2006).

1.3. Eigenschaften und Tenazität

Über die Tenazität des porzinen Circovirus Typ 2 ist wenig bekannt. Es existieren verschiedene Untersuchungen zur Stabilität und dem Verhalten gegenüber Umwelteinflüssen. So geben ALLAN et al. (1994) für das porzine Circovirus Typ 1 eine Hitzestabilität gegenüber 56°C und 70°C an und eine ausbleibende Inaktivierung durch die Behandlung mit Chloroform oder einem pH Wert von 3. WELCH et al. (2006) untersuchen in ihrer *in vitro* Studie die Auswirkungen von einer Pasteurisierung bei 60°C auf die Infektiosität von PCV2. Das Forscherteam stellt fest, dass die Circoviren dem Verfahren gegenüber deutlich resistenter sind als canine Parvoviren oder humane Polioviren und auch bei langanhaltender

Hitzebehandlung über 24 Stunden die Infektiosität erhalten bleibt (WELCH et al., 2006). Weiterhin geben die Autoren an, dass die Virustiter ab einer Temperatur von 70°C deutlich sinken und die Viren weniger infektiös sind (WELCH et al., 2006). Auch O'DEA et al. (2008) beobachten, dass PCV2 durch Hitzebehandlungen bei 70°C für 15 Minuten nicht inaktiviert wird, die Infektiosität allerdings deutlich reduziert wird. Eine vollständige Inaktivierung des Virus wird ab 80°C erreicht (O'DEA et al., 2008). WELCH et al. (2006) führen an, dass die Beständigkeit gegenüber hohen Temperaturen möglicherweise auf die zirkuläre Struktur der DNA, welche zur erhöhten Stabilität des Genoms beiträgt, zurückzuführen ist.

Das Fehlen einer Virushülle macht PCV2 nicht nur sehr resistent gegenüber hohen Temperaturen, sondern auch gegen Chemikalien (MARTIN et al., 2008; O'DEA et al., 2008). Auch andere Circoviren sind hoch resistent gegenüber der Inaktivierung mittels Wasch- und Desinfektionsmitteln (HARDING, 2004). Die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) empfiehlt aufgrund fehlender publizierter Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen über die Empfindlichkeit von Circoviren, vorsorglich die Verwendung der 1,5-fachen Konzentration der von ihnen gelisteten Desinfektionsmittel gegen unbehüllte Viren zu verwenden (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT, 2020).

1.4. Ausscheidung von PCV2

Die Ausscheidung von PCV2 erfolgt über verschiedene Se- und Exkrete des Respirations- und Gastrointestinaltrakts infizierter Tiere (SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS et al., 2005a; ROSE et al., 2012) sowie über den Urin (SEGALÉS et al., 2005a). Auch im Kolostrum und in der Milch von Sauen (SHIBATA et al., 2006) und im Sperma (SCHMOLL et al., 2008) können porcine Circoviren Typ 2 nachgewiesen werden.

1.4.1. Ausscheidung über respiratorische sowie orale Sekrete, Kot und Urin

Mittels TaqMan PCR ermitteln SEGALÉS et al. (2005a) in ihren Untersuchungen die höchste Virusmenge in Tracheobronchialtupfern, gefolgt von Tonsillar-, Nasal-, Kot- und Urintupfern. SHIBATA et al. (2003)

weisen in einem Feldversuch zwischen dem 1. und 70. Tag *post infectionem* (p.i.) PCV2-DNA im Kot und in Rachen- und Nasentupfern von experimentell infizierten Schweinen nach. Sie beobachten, dass die Ausscheidung der Virusmenge im Nasensekret und im Kot bis zu einem Alter von 3 – 4 Monaten ansteigt und zu diesem Zeitpunkt am höchsten ist (SHIBATA et al., 2003). Auch PATTERSON et al. (2011a) weisen ebenfalls nach, dass die Virusausscheidung in gleichwertigen Mengen in nasalen, oralen und fäkalen Sekreten für mindestens 69 Tage nach experimenteller Infektion erfolgt (PATTERSON et al., 2011a). Dabei machen sie die Beobachtung, dass die Menge der detektierten PCV2-DNA in den genannten Sekreten die Menge der Virus-DNA, die man zeitlich im Serum findet, widerspiegelt (PATTERSON et al., 2011a). PRICKETT et al. (2011) zeigen in ihrer Studie eine langanhaltende Ausscheidung von PCV2 im Speichel (Oral Fluid) der Studientiere. Sie können ab dem 2. Tag p.i. PCV2-DNA in Oral Fluid Proben nachweisen und detektieren noch 98 Tage p.i. $10^{5,6}$ Genomkopien/ml im Speichel der Schweine (PRICKETT et al., 2011).

1.4.2. Einflussfaktoren auf die ausgeschiedene Virusmenge

SEGALÉS et al. (2005a) beobachten, dass in den Probenmaterialien der älteren Studientiere (> 1,5 Monate alt), mit Ausnahme der Tonsillartupfer, höhere Virus-DNA-Mengen vorzufinden sind als in denen der jüngeren Schweine (< 1,5 Monate alt) und vermuten, dass das Alter der heranwachsenden Tiere einen Einfluss auf die ausgeschiedene Virusmenge hat. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von PATTERSON et al. (2011a), die keine signifikanten Unterschiede zwischen den getesteten Altersgruppen (< 1,5 Monate und $\geq 1,5$ Monate) ausmachen können.

Neben dem Alter der Masttiere (SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS et al., 2005a) spielt auch die Manifestation der Erkrankung eine Rolle (SIBILA et al., 2004; SEGALÉS et al., 2005a; GRAU-ROMA et al., 2009; PATTERSON et al., 2011a). Je deutlicher die durch PMWS verursachten Läsionen der Organe in der Sektion vorzufinden sind, desto höher ist die Menge an PCV2-DNA, die mittels Immunhistochemie in den Geweben nachgewiesen wird, und desto höher ist die Menge der PCV2-DNA im Serum und in den

Tupfern aus Respirationstrakts und dem Rektum (SEGALÉS et al., 2005a). GRAU-ROMA et al. (2009) kommen zu den gleichen Erkenntnissen und weisen in ihren Untersuchungen nach, dass die DNA-Menge in Nasen- und Kottupfern von an PMWS erkrankten Schweinen deutlich höher ist als bei gesunden Studientiere mit milden klinischen Krankheitsverläufen, diese Tiere scheiden deutlich weniger PCV2 aus (SEGALÉS et al., 2005a). Zu den gleichen Ergebnissen gelangen auch PATTERSON et al. (2011a), die die Studientiere anhand von histopathologischen Untersuchungen und immunhistochemischen Ergebnissen in drei Gruppen einteilen: Gruppe A: PMWS erkrankt, Gruppe B: subklinisch PCV2 infiziert, Gruppe C: PCV2 negativ. Tiere der Gruppe A zeigen höhere Virus-DNA-Mengen in den untersuchten Proben als Tiere der Gruppen B und C, die nicht an PMWS erkrankt sind, aber dennoch PCV2-DNA ausscheiden (PATTERSON et al., 2011a). Eine persistierende Infektion mit PCV2 ist möglich und kann zu einer intermittierenden Ausscheidung durch Nasensekret und Kot führen, wodurch ein potenzielles Übertragungsrisiko für Buchtengenossen entsteht (GRAU-ROMA et al., 2009).

Eine Co-Infektion mit dem *porcine reproductive and respiratory syndrome virus* (PRRSV) führt bei heranwachsenden, experimentell infizierten Schweinen zu einer höheren PCV2-Ausscheidung in oralen und nasalen Sekreten sowie im Kot (SINHA et al., 2011). Weiterhin konnten die Autoren eine verlängerte Ausscheidung von PCV2-DNA beobachten (SINHA et al., 2011).

Über mehrere Jahre durchgeführte intensive Impfprogramme gegen PCV2 haben dazu geführt, dass weniger Virämien auftreten und eine deutlich geringere Virusmenge ausgeschieden wird (DVORAK et al., 2016). Zu dieser Erkenntnis kommen FORT et al. (2008) bereits 8 Jahre zuvor, indem sie experimentell infizierte Tiere mit einer Two-Shot-Vakzine impfen und zeigen, dass diese Tiere keine Virämie ausbilden. Die Menge viraler DNA in Nasen- und Kottupfern der geimpften Studientiere ist deutlich geringer als in den Proben der nicht geimpften Tiere, wie auch die Anzahl der virusausscheidenden Tiere (FORT et al., 2008).

1.5. Erregerübertragung

Die Übertragung von PCV2 kann sowohl auf horizontalem (ALBINA et al., 2001; SHIBATA et al., 2003) als auch auf dem vertikalen Weg erfolgen (DVORAK et al., 2013). Durch Impfprogramme ist die ausgeschiedene Virusmenge geringer und die Gefahr der horizontalen oder vertikalen Übertragung niedriger, dennoch zirkuliert das porcine Circovirus Typ 2 weiterhin in den Schweinebeständen (DVORAK et al., 2016).

1.5.1. Horizontale Übertragung

Der Hauptübertragungsweg von PCV2 ist der enge Kontakt zwischen infizierten Tieren und nicht infizierten, empfänglichen Tieren (MADEC et al., 2008). Dieser direkte Kontakt zwischen den Schweinen stellt den effizientesten Übertragungsweg dar (ROSE et al., 2012). Die Übertragung erfolgt über Nasensekret (SEGALÉS et al., 2005a), Kot und Speichel (PATTERSON et al., 2011a). Dabei kommt es nicht zwangsweise zu einer Erkrankung oder der Ausbildung klinischer Erscheinungen einer PCV2-Infektion (SEGALÉS et al., 2005b).

ALBINA et al. (2001) infizieren spezifisch pathogenfreie Ferkel mit PCV2 (aus Gewebe an PMWS erkrankter Tiere) und führen so eine Erkrankung bei 7,2% der Studientiere herbei. Milde klinische Krankheitsverläufe (erhöhte rektale Temperatur und Wachstumsretardierung) zeigen 90% der Studientiere, die direkten Kontakt zu den erkrankten Tieren hatten und 82% der Tiere, die experimentell infiziert wurden (ALBINA et al., 2001). Auch BOLIN et al. (2001) können in ihren Untersuchungen neben der experimentellen intranasalen Infektion eine direkte Übertragung von PCV2 nachweisen. Drei Studientiere werden 42 Tage nach der Infektion mit drei naiven Tieren aufgestellt, die innerhalb von drei Wochen serokonvertieren (BOLIN et al., 2001). In einer Untersuchung über die horizontale Übertragung von PCV2 mittels verschiedenen Genotyp-Varianten zeigt sich, dass das Virus hauptsächlich über direkten Kontakt (Tiere in derselben Bucht) und durch Kontakt zu Tieren in benachbarten Buchten (nasaler Kontakt) übertragen wird (DUPONT et al., 2009). Die Autoren halten den nasalen Kontakt und den direkten Kontakt zu Kot und Urin für die wichtigsten Wege der Verbreitung von PCV2 (DUPONT et al., 2009) und bekräftigen damit die Ergebnisse von SHIBATA et al. (2003),

SEGALÉS et al. (2005a) und GRAU-ROMA et al. (2009).

PATTERSON et al. (2011a) weisen in ihrer Studie die Übertragung durch Kot nach, indem sie naive Tiere mit Kot von infizierten Schweinen füttern und so bei zwei von vier Tieren eine Infektion hervorrufen können. Sie weisen aber darauf hin, dass der Kontakt zu infektiösem Nasensekret, besonders von persistent infizierten Tieren, möglicherweise eine wichtigere Übertragungsmöglichkeit darstellt als der fäko-orale Weg (PATTERSON et al., 2011a).

Auch subklinisch infizierte Schweine können über direkten Kontakt eine Infektion von spezifisch pathogenfreien Tieren verursachen (ANDRAUD et al., 2008). Die Untersuchung aus dem Jahr 2008 beleuchtet die Übertragung innerhalb eines Abteils, also zwischen zwei Buchten (indirekter Kontakt), und die innerhalb einer Bucht (direkter Kontakt) (ANDRAUD et al., 2008). In der Tiergruppe mit direktem Kontakt zu subklinisch infizierten Schweinen konnte man nach 28 Tagen 15/16 Tiere (94,0%) als infiziert einstufen (zwischen 10^5 und 10^7 PCV2 Kopien/ml Serum) (ANDRAUD et al., 2008). Weiterhin zeigen sie, dass die Übertragung auch ohne direkten Kontakt zu infizierten Tieren möglich ist, wobei die Übertragungsrate bei der Tiergruppe mit indirekten Kontakt geringer ist (ANDRAUD et al., 2008).

Indirekter Kontakt durch kontaminierte Gegenstände, z.B. kontaminierte Injektionskanülen, ist ein weiterer Weg der horizontalen PCV2-Übertragung (PATTERSON et al., 2011a). Auch Buchtenwände, -böden und verschiedene Arbeitsutensilien, wie Hochdruckreiniger, Futterwägen und Arbeitsschuhe können mit PCV2-DNA kontaminiert sein und als unbelebte Vektoren eine zentrale Rolle in der Übertragung des Virus und vor allem dessen Fortbestehen im Schweinebestand einnehmen (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019).

1.5.2. Vertikale Übertragung

GRAU-ROMA et al. (2009) untersuchen in ihrer Studie Ferkel von Geburt an und zeigen, dass eine PCV2-Infektion bereits vor dem Absetzen der Ferkel vorhanden sein kann. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Sauen während der Sägezeit virämisch sein können und unterstützt die

Annahmen einer vertikalen Übertragung über die Milch (GRAU-ROMA et al., 2009). Der Nachweis von PCV2-DNA in Kolostrum und Sauenmilch von experimentell und natürlich infizierten Sauen gelingt im Jahr 2006 (SHIBATA et al., 2006). Infektiöse PCV2 Titer können 2011 in Kolostrum-Proben (53,6%) und Milch-Proben (25,0%) von geimpften und nicht geimpften Sauen nachgewiesen werden (GERBER et al., 2011). Es wird beobachtet, dass nicht geimpfte Sauen eine höhere Menge PCV2-DNA in die Milch abgeben (MADSON et al., 2009).

Einen Hinweis auf die intrauterine Übertragung erlangen MADSON et al. (2009) in ihrer experimentellen Untersuchung mit dem Nachweis von Virämien in lebendgeborenen Ferkeln kurz nach der Geburt. Die Besamung von naiven Sauen mit PCV2b-positiven Sperma führt sowohl bei den trächtigen Sauen zu einer Virämie, als auch zu einer PCV2-Infektion bei ihren lebendgeborenen Ferkeln, denen präkolostral Blut entnommen wird (MADSON et al., 2009). Auch DVORAK et al. (2013) weisen in einer Untersuchung bei 63% der Ferkel vor der Kolostrumaufnahme PCV2-DNA im Serum nach. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von EDDICKS et al. (2016) aus Deutschland, die Serum von Ferkeln vor und nach (24 Stunden) der Kolostrumaufnahme auf das Vorhandensein von PCV2-DNA untersuchen und in keinem der Ferkel Virus-DNA detektieren können. Da nur 1% der untersuchten, klinisch gesunden Sauen PCV2 positive Seren besitzen, kommen sie zu dem Schluss, dass die intrauterine Infektion eine geringere Rolle spielt als angenommen (DVORAK et al., 2013) und vermuten, dass es erst im Laufe der Säugeperiode zu einer Infektion der Ferkel durch eine kontaminierte Umgebung kommt (EDDICKS et al., 2016).

1.5.3. Einflussfaktoren auf die Übertragung

MADEC et al. (2000) vermuten, dass die Umgebung eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung einer PMWS-Erkrankung einnimmt. Um die mikrobielle Last zu senken, werden ein verbessertes Hygienesystem, das Anwenden des Rein-Raus-Systems, eine verbesserte Ventilation und die Reduzierung der Tierzahl vorgeschlagen (MADEC et al., 2000). Einen zusätzlichen Effekt hat die Reduktion des Vermischens der Altersgruppen, welches bei dem Zurückstallen der Tiere erfolgt und eine Übertragung der

Pathogene der älteren auf die jüngeren Tiere mit sich bringt (MADEC et al., 2000).

2. Nachweis von PCV2-DNA

2.1. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

MULLIS und FALOONA (1987) beschreiben 1987 eine *in vitro* Methode, bei der sie DNA mittels einer Polymerase-katalysierten Reaktion amplifizieren können. Real-time PCRs, bei der der Nachweis und die Quantifizierung der entstandenen Amplifikate durch eine Fluoreszenzmessung in Echtzeit vorgenommen wird, erweisen sich für virologische Untersuchungen als sehr geeignet (MACKAY et al., 2002). Zur quantitativen Darstellung der Messung werden Ct-Werte (cycle threshold) verwendet (HEID et al., 1996). Durch den Ct-Wert wird die Anzahl von Zyklen beschrieben, die nötig sind, um einen festgelegten Schwellenwert zu beschreiben, dabei besteht eine lineare Korrelation mit der relativen Anzahl an DNA-Kopien (HEID et al., 1996).

ALLAN et al. (1999) nutzen die Unterschiede in der Genomsequenz von PCV1 und PCV2 (MEEHAN et al., 1998) und können mit einer PCR die Virus-DNA aus Gewebe von erkrankten Schweinen vermehren und den beiden porcinen Circoviren zuordnen. Auch LAROCHELLE et al. (1999) entwickeln eine Multiplex-PCR, um PCV1 und PCV2 in Gewebeproben retrospektiv zu unterscheiden. Ein Jahr später wird eine Quantifizierung von PCV2 in Serumproben mittels kompetitiver PCR vorgenommen und somit eine Möglichkeit geschaffen, die Virusausscheidung mit der Manifestation klinischer Symptome zu assoziieren (LIU et al., 2000). CHUNG et al. (2005) nutzen im Jahr 2005 eine quantitative real-time PCR, die es ihnen ermöglicht PCV2-DNA bei Schweinen mit verschiedenen Erkrankungsgraden zu detektieren. Mit dieser Methode ist das Forscherteam in der Lage Virusmengen im Bereich von 9-log_{10} Genomkopien/ μl zu ermitteln, was mit anderen PCR-Methoden bis dahin nicht gelang (CHUNG et al., 2005). Die Entwicklung einer spezifischen quantitativen real-time PCR zur Detektion von PCV2 stellt eine kostengünstige und schnelle Nachweismethode dar und macht 2008 eine Unterscheidung der Genotypen a und b möglich (GAGNON et al., 2008).

Diese real-time PCR besitzt eine höhere Sensitivität als eine konventionelle PCR (GAGNON et al., 2008).

2.2. Nachweisbarkeit in unterschiedlichen Probenmaterialien

Verschiedene Untersuchungsmaterialien wie Serum (SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS et al., 2005a), Kot- und Nasentupfer (SHIBATA et al., 2003), Speichel (PRICKETT et al., 2008; PRICKETT et al., 2011) und Gewebe (BRUNBORG et al., 2004) eignen sich, um spezifische Genomfragmente von PCV2 mittels einer PCR nachzuweisen.

Vollblut und Serum stellen sehr gut geeignete Materialien für den Nachweis unter Feldbedingungen dar (SHIBATA et al., 2003). Die Autoren gehen davon aus, dass PCV2-DNA für einen längeren Zeitraum im Blut präsent ist als in Nasen- oder Kottupfern (SHIBATA et al., 2003). Im Kot kann PCV2 bis zu 70 Tage nach experimenteller Infektion nachgewiesen werden, daher halten die Autoren ein Monitoring von Schweinen durch die Untersuchung von Kotproben mittels PCR für praktikabel. Auch im Nasensekret ist die Virus-DNA mittels PCR ab dem 1. Tag p.i. nachweisbar (SHIBATA et al., 2003). Nasen- und Rektaltupfer stellen ebenfalls geeignete Probenmaterialien dar, um die quantitative PCV2-Ausscheidung zu untersuchen (GRAU-ROMA et al., 2009). In Speichel (Oral Fluid) kann PCV2 mittels PCR zwei Tage nach experimenteller Infektion nachgewiesen werden (PRICKETT et al., 2011). Die langanhaltende Detektion (98 Tage) in Oral Fluids bietet ein effizientes Monitoring-Tool für Schweinebestände (PRICKETT et al., 2011).

2.3. Nachweis in der Umgebung

DVORAK et al. (2013) untersuchen in ihrer Studie auch die Umgebung von Sauen und Saugferkeln, indem sie Tupferproben von den Böden der Abferkelbuchten und den Stangen des Kastenstands nehmen. Die trockenen Tupferspitzen werden in Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS-Lösung) gelagert und eingefroren. Außerdem wird eine nicht benutzte Abferkel-Bucht mit Swiffer®-ähnlichen Tüchern vor und nach der Desinfektion beprobt, die Tücher werden ebenfalls in PBS-Lösung getränkt (DVORAK et al., 2013). Es folgt eine DNA-Extraktion und eine Bearbeitung mittels quantitativer PCR (DVORAK et al., 2013). PATTERSON et al.

(2011b) untersuchen die Kontamination mit PCV2 in Modell-Tiertransportern anhand einer real-time PCR. Dafür verwenden sie Tupfer aus Polyester, die sie in je 1 ml steriler Kochsalzlösung getränkt haben, und beproben so mittels einer Schablone eine Fläche von 5,5 cm Durchmesser an ausgewählten Stellen der kontaminierten Transporter (PATTERSON et al., 2011b).

Auch die Kontamination mit anderen Erregern wurde durch Umgebungsproben untersucht. So nehmen BODE et al. (2007) Tupferproben von Böden, Wänden, Trögen, Tränken, Transportfahrzeugen und Reinigungsgeräten in Betrieben mit einer erhöhten Salmonellen-Belastung. Eine weitere Studie aus dem Jahr 2012 untersucht mit Hilfe von Wischproben ebenfalls die Salmonellen-Kontamination auf Gegenständen, die in direktem Kontakt zu den Schweinen stehen (Buchtenwände, Tröge, Trinknippel, Beschäftigungsmaterialien) als auch Gegenständen, die nur indirekt Kontakt mit Tieren haben (Heizstrahler, Rohre, Stiefel, Laderampen) (GOTTER et al., 2012). Dazu werden 10 x 30 cm lange Gaze-Tupfer in gepuffertes Peptonwasser gegeben, sterilisiert und anschließend als Wischprobe verwendet (GOTTER et al., 2012). PITKIN et al. (2009) verwenden Tupfer aus Polyester, um Hände, Stiefel, Overalls, Futtersäcke und Kabelschlingen aus Schweinställen zu untersuchen und mögliche Übertragungsrisiken von PRRSV zu identifizieren. Auch in einer Studie über die Influenza-Überwachung werden Wischproben aus feuchten Gaze-Tupfern für eine Untersuchung der Umgebung verwendet (GARRIDO-MANTILLA et al., 2019).

3. Reinigung und Desinfektion

Die Reinigung und Desinfektion (R + D) kann nur in Kombination eine effektive Reduktion des Keimgehalts auf Oberflächen in Ställen ermöglichen (BÖHM, 1998). Im Laufe einer Haltungsperiode steigt der Keimgehalt im Stall fortlaufend an, die von den Schweinen ausgeschiedenen Erreger stellen somit eine Gefährdung der Tiergesundheit dar (PRANGE, 2004). Ziel ist es, die neuen Schweine in eine möglichst unbelastete Umgebung einzustallen (PRANGE, 2004). Unabhängig von der Art der Haltung und dem Alter der Tiere ist das

grundsätzliche Vorgehen in allen Produktionsstufen gleich: zuerst erfolgt die Reinigung, dann die Desinfektion (PRANGE, 2004). In Betrieben, die ein Rein-Raus-System verwenden, lassen sich die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen sehr effektiv durchführen (PRANGE, 2004).

3.1. Reinigung in Schweineställen

Ziel der Reinigungsmaßnahmen ist es, die visuelle Sauberkeit eines Objektes zu erreichen, sodass die Oberflächenstruktur, die Farbe und die ursprüngliche Beschaffenheit deutlich zu erkennen sind (PRANGE, 2004). Die grundlegenden Schritte der Reinigung sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Arbeitsschritte der Reinigung in Schweineställen, modifiziert nach PRANGE (2004)

| Arbeitsschritt | Arbeiten |
|---|--|
| Vorarbeiten (Trockenreinigung) | Bewegliche Einrichtungen entfernen, Lüftungs- und Futteranlagen von Staub und Futterresten befreien, Stall besenrein ausmisten |
| | Einweichen evtl. mit Reinigungsmittel |
| Reinigung (Nassreinigung) | Hochdruckreinigung bis das abfließende Spülwasser frei von Schmutzteilchen ist |
| | Trocknen |

Die Nassreinigung von Ställen beinhaltet zwei Hauptschritte: zunächst findet ein Einweichen statt, bei Bedarf unter Verwendung eines Reinigungsmittels, anschließend werden die Oberflächen mit Hochdruck (80 - 120 bar) gereinigt (BÖHM, 1998; PRANGE, 2004). Die Verwendung von warmen Wasser (40°C) zeigt eine effektivere Reduzierung der Keimmenge auf Betonböden in Aufzuchtställen (BÖHM, 1998). Unter Druck verwendetes heißes Wasser reinigt die Oberflächen durch den Effekt der Spülung und den hydraulischen Aufprall des Wassers (KAHRS, 1995). So löst das Wasser anorganische Salze, emulgiert Fette und wäscht organische Rückstände fort und wirkt für einen Moment bakterizid, bis die Oberfläche abkühlt (KAHRS, 1995).

Die Reinigung von glatten Oberflächen wie z.B. Flächen aus Stahl oder Keramik ist einfacher, als die von Holz oder Beton (BÖHM, 1998). Nach der Reinigung sollten die Oberflächen trocknen, dieser Prozess kann durch Ventilatoren oder Heizstrahler beschleunigt werden (BÖHM, 1998). Das Trocknen verhindert eine Verdünnung des nachfolgend ausgebrachten Desinfektionsmittels und fördert das Eindringen in die Poren des Materials (PRANGE, 2004).

3.2. Effekt der Reinigung auf die virale Kontamination in der Umgebung

1986 zeigen MENGELING und PAUL (1986), dass das porcine Parvovirus in ungereinigten Ställen mindestens 14 Tage infektiös bleibt und somit zu einer Infektion von neu eingestellten, naiven Tieren führen kann. Damit verdeutlichen sie die Notwendigkeit der Reinigung von Stallungen, um Se- und Exkrete von erkrankten Tieren effektiv zu beseitigen (MENGELING und PAUL, 1986). Eine signifikante Reduktion der PCV2-DNA-Menge durch das Waschen von kontaminierten Modell-Transportern konnten PATTERSON et al. (2011b) beobachten. DVORAK et al. (2013) finden sowohl in Abferkelbuchten, die mit Hochdruck gewaschen wurden, als auch in Buchten die mit wenig Druck gewaschen wurden, noch hohe Mengen an PCV2-DNA.

3.3. Desinfektion in der Nutztierhaltung

In der Tierhaltung wird zwischen einer vorbeugenden und einer speziellen Desinfektion unterschieden (PRANGE, 2004). Eine Tierseuchendesinfektion stellt immer eine spezielle Desinfektion dar, bei der die vollständige Eliminierung bestimmter Krankheitserreger angestrebt wird (PRANGE, 2004). Für die vorbeugende Desinfektion werden in der Regel Handelspräparate verwendet (PRANGE, 2004). Einer Desinfektion ist immer die gründliche Reinigung der Stallungen und Oberflächen vorangestellt, da durch einen hohen Gehalt an organischem Material die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel deutlich herabgesetzt wird (BÖHM, 1998). Eine Desinfektion eignet sich vor allem für nicht vektorübertragene Erreger, solche, die durch Se- und Exkrete übertragen werden, die an Geräten, Böden und Fahrzeugen haften können (KAHRS,

1995).

Der wichtigste Schritt der Desinfektion ist die Auswahl des Desinfektionsmittels (BÖHM, 1998). Bei der Verwendung von kommerziell erhältlichen Präparaten hängt die Wirksamkeit von der verwendeten Konzentration ab, die Empfehlungen des Herstellers sollten dabei durch Feldversuche fundiert sein (BÖHM, 1998). Auch PRANGE (2004) rät, nur von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) geprüfte Desinfektionsmittel zu verwenden. Die DVG-Desinfektionsmittelliste für den Tierhaltungsbereich enthält alle geprüften und als wirksam befundenen Handelspräparate mit Wirkspektrum, Gebrauchskonzentrationen, Einwirkzeiten und -temperaturen (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT, 2020). Im Regelfall wird nach dem Auftragen des Präparats nicht mit Wasser nachgespült, sodass das Desinfektionsmittel auf den Oberflächen trocknet und nach der vorgegebenen Einwirkzeit die Desinfektion als abgeschlossen anzusehen ist (PRANGE, 2004).

BÖHM (1998) gibt an, dass die Desinfektion von Tiertransportern als problematisch zu betrachten ist, da die Außentemperaturen in den kalten Jahreszeiten ($< 10^{\circ}\text{C}$) für die Anwendung einiger Desinfektionsmittel nicht geeignet sind und die notwendige Reinigung der Transporter oft schwierig ist. Um dies zu vermeiden, sollten Tiertransporter in einem separaten Gebäude mit Dach gereinigt und desinfiziert werden (BÖHM, 1998). Auch PRANGE (2004) weist darauf hin, dass Präparate, die Aldehyde, organische Säuren oder Phenole als Hauptwirkstoffe enthalten nicht bei Temperaturen unter 10°C eingesetzt werden sollten.

3.4. Desinfektion gegen Viren

Angriffsstellen der Desinfektionsmittel sind die virale Hülle, das Kapsid, welches die Form des Virus bestimmt und als Schutz der Nukleinsäuren dient, und das virale Genom (MCDONNELL und RUSSELL, 1999). Die Desinfektion von Oberflächen ist vor allem gegen die Viren wichtig, die in der Umgebung überleben, nachdem man die infizierten, ausscheidenden Tiere entfernt hat (KAHRS, 1995).

3.4.1. Desinfektion von PCV2

In einem *in vitro* Versuch vergleichen ROYER et al. (2001) elf Desinfektionsmittel mit einer Negativkontrolle und prüfen deren Fähigkeit die PCV2-Titer einer Zellkultur zu reduzieren. Keines der kommerziell erhältlichen Desinfektionsmittel für die Schweinehaltung hat eine bekannte Wirksamkeit gegen porcine Circoviren, dennoch sind sieben Präparate in der Lage die Titer deutlich zu reduzieren (ROYER et al., 2001). Desinfektionsmittel, die unter *in vitro* Umständen nicht optimal wirken, sind möglicherweise unter realen Bedingungen in Feldversuchen noch weniger effektiv, da sowohl die Kontaminationszeit als auch das Vorhandensein von organischem Material die Wirkung herabsetzen (ROYER et al., 2001). Möglicherweise wird aber die Übertragung von Tiergruppe zu Tiergruppe durch die Reduktion von PCV2 in der Umgebung der Schweine reduziert oder verhindert (ROYER et al., 2001). Auch YILMAZ und KALETA (2004) untersuchen unter Laborbedingungen vier Desinfektionsmittel in Keimträgerversuchen mit Pappelholz bei 20°C und 10°C. Die von der DVG gelisteten Präparate zeigen eine wirksame Desinfektion gegen PCV2, werden allerdings bei einer Temperatursenkung von 20°C auf 10°C in ihrer Wirksamkeit herabgesetzt, sodass die Autoren eine höhere Konzentration bei dieser Temperatur empfehlen (YILMAZ und KALETA, 2004). In einer anderen Studie untersuchen MARTIN et al. (2008) die Wirksamkeit von neun kommerziell in Frankreich erhältlichen Desinfektionsmitteln, welche in Schweinebeständen verwendet werden, aber eine nicht bekannte Wirksamkeit gegen das porcine Circovirus Typ 2 besitzen. Nachdem die Desinfektionsmittel mit einer PCV2-Suspension zusammengebracht werden, erfolgt eine Inkubation bei 20°C für 30 Minuten (MARTIN et al., 2008). Sieben der neun Desinfektionsmittel können eine Reduktion der verwendeten PCV2-Titer herbeiführen, fünf davon in einer vom Hersteller empfohlenen Konzentration (MARTIN et al., 2008). Auch DVORAK et al. (2013) können in ihrer Untersuchung eine Reduzierung der PCV2-DNA-Mengen durch eine Desinfektion von Betonböden, Buchtenwänden und Kastenständen in Abferkelbuchten beobachten, stellen jedoch keine vollständige Eliminierung fest (DVORAK et al., 2013).

3.4.2. Desinfektion anderer Viren

Eine erfolgreiche Durchführung von Desinfektions-Studien über die Eliminierung von behüllten Viren ist schwierig, da jedes Virus spezifische Eigenschaften hat und strukturelle Unterschiede zwischen den Virusfamilien existieren, die sich auf die Überlebensfähigkeit im getrockneten Zustand auswirken (KRUG et al., 2011). KRUG et al. (2011) untersuchen in einem Modell-Versuch die Wirksamkeit von Natriumhypochlorit und Zitronensäure gegenüber dem Maul- und Klauenseuche Virus (MKSU), dem Virus der Afrikanischen (ASPU) und dem der Klassischen Schweinepest (KSPV) auf einer Oberfläche aus Stahl und Plastik. Die Virussuspensionen, bestehend aus Virus und PBS-Lösung, wurden auf die Oberflächen aufgebracht und trocknen gelassen, anschließend wurden sie für 10 Minuten den Desinfektionsmitteln ausgesetzt und danach in eine neutralisierende Lösung verbracht (KRUG et al., 2011). Die Forscher beobachteten, dass die Infektiosität von MKSU und ASPU allein durch das Trocknen auf den beiden unterschiedlichen Oberflächen um zwei log-Stufen herabgesetzt wird, die von ASPU um etwa drei log-Stufen (KRUG et al., 2011). Natriumhypochlorit ist in der Lage alle drei Viren effektiv zu inaktivieren, die 2%ige Zitronensäure ist unwirksam gegenüber KSPV (KRUG et al., 2011). Eine weitere Studie zeigt, dass Natriumhypochlorit und Zitronensäure durch die Anwesenheit von organischem Material wie Kot, Fleischsaft und besonders Schweineblut, deutlich in ihrer Wirksamkeit herabgesetzt werden (KRUG et al., 2018). Weiterhin werden zwei kommerziell in der Fleischproduktion verwendete Desinfektionsmittel gegen getrocknetes Virus in Blut und Fleischsaft getestet, mit dem Ergebnis, dass keine Reduzierung des Virus-Titers erreicht wird (KRUG et al., 2018). KRUG et al. (2018) gehen davon aus, dass der Trocknungsprozess von organischem Material einen entscheidenden Effekt auf die eingeschränkte Wirksamkeit der getesteten Desinfektionsmittel hat und sehen umso mehr die Notwendigkeit einer der Desinfektion vorangestellten Reinigung von Oberflächen.

YILMAZ und KALETA (2003) untersuchen vier verschiedene Desinfektionsmittel gegen drei unbehüllte Viren (Bovines Enterovirus Typ 1, Orthoreovirus Typ 1 und Bovines Adenovirus Typ 1) bei jeweils 20°C

und 10°C. In ihrer Studie stellt sich heraus, dass die Präparate stark temperaturabhängig sind und bei 10°C sowohl eine längere Einwirkzeit als auch eine höhere Konzentration der Desinfektionsmittel erforderlich ist (YILMAZ und KALETA, 2003). Des Weiteren beeinflusst die Anwesenheit von Proteinen (Bovines Serumalbumin und Hefe) die Wirkung der Präparate gegenüber den Viren, sodass bei einigen Desinfektionsmitteln ebenfalls eine längere Einwirkzeit oder die Verwendung von höheren Konzentrationen, als die vom Hersteller angegebenen, empfohlen wird (YILMAZ und KALETA, 2003).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Ziel der Untersuchung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Kontamination von Mastställen mit PCV2 zu erfassen. Es sollen Bereiche in den Buchten identifiziert werden, an denen sich Virus-DNA hauptsächlich anreichert. Des Weiteren soll der Effekt der durchgeführten bestandsspezifischen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen auf den Nachweis von PCV2-DNA untersucht werden.

Arbeitshypothesen:

- 1) Zum Zeitpunkt des Ausstallens der schlachtreifen Mastschweine kann eine Kontamination der Umgebung sowie Arbeitsmittel mit PCV2 nachgewiesen werden.
- 2) Vor allem an Gegenständen, die vermehrt mit Kot und Speichel der Schweine in Berührung kommen, kann eine PCV2-Kontamination nachgewiesen werden.
- 3) Die Kontamination der Umgebung und der Arbeitsmittel wird durch die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen signifikant reduziert.

2. Versuchsaufbau

2.1. Auswahl der untersuchten Betriebe

Es wurden insgesamt zwölf Betriebe aus verschiedenen Bundesländern Deutschlands in die Studie eingeschlossen. Dabei handelte es sich sowohl um reine Mastbestände als auch um Betriebe, die mit einem geschlossenen System arbeiten. Die Teilnahme an der Untersuchung erfolgte auf freiwilliger Basis.

Um die Zielesetzung der Untersuchung zu erwirken, war der Nachweis von PCV2-DNA in den Beständen das primäre Auswahlkriterium. In die Auswahl wurden nur Bestände aufgenommen, die im Rahmen einer

vorangegangenen Studie mittels Kaustrieken beprobt und als PCV2-positiv eingestuft wurden (Dissertation BEISL (2020)). Ein weiteres Einschlusskriterium war, dass die Mastgruppen in den Betrieben entweder abteilweise oder stallweise im Rein-Raus-System aufgestellt wurden, um die Auswirkungen einer Reinigung und Desinfektion der Abteile untersuchen zu können. Bestände, die beide Kriterien erfüllten, wurden kontaktiert und über das Studiendesign wie auch das weitere Vorgehen der Untersuchung aufgeklärt.

2.2. Studiendesign

In jedem der zwölf Betriebe erfolgte eine zweimalige Probennahme von verschiedenen Gegenständen desselben Abteils. Die Zeit zwischen den beiden Beprobungen richtete sich nach den innerbetrieblichen Abläufen und betrug maximal sieben Tage. Die erste Beprobung fand vor der Reinigung und Desinfektion statt, die zweite Beprobung erfolgte im sauberen Abteil, bevor neue Tiere eingestallt wurden. Die Stalleinrichtung der Mastabteile wurde mittels Wischproben beprobt. Dafür wurden in jedem Abteil drei verschiedene, nicht benachbarte Buchten für die Probennahme ausgewählt. Das Abteil des Betriebs Nr. 4 war nicht in Buchten unterteilt, in diesem Fall wurde das Abteil in drei Zonen unterteilt. Vor der ersten Probennahme wurde eine Skizze des Abteils und der Buchten angefertigt, auf der die zu beprobenden Stellen markiert wurden. So konnte gewährleistet werden, dass die zweite Beprobung an denselben Stellen erfolgte. Die zweite Probennahme wurde durchgeführt, sobald die betriebseigenen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen abgeschlossen waren und bevor neue Tiere in das Mastabteil eingestallt wurden.

Um ein standardisiertes Vorgehen zu gewährleisten, erfolgte die Probennahme in allen zwölf Betrieben durch dasselbe Personal der Klinik für Schweine der LMU München.

Das Versuchsvorhaben wurde der Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät der LMU München vorgelegt und von dieser akzeptiert (Aktenzeichen 191-05-11-2019).

2.3. Studienbetriebe

Die Studienbetriebe befanden sich in den Bundesländern Bayern, Baden-Württemberg, Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Schleswig-Holstein. Die Betriebe 1, 2, 3, 4, 5, 6 und 9 waren reine Mastbestände, die Versuchsbetriebe 7, 8, 10, 11 und 12 wirtschafteten im geschlossenen System. Es handelte sich um Betriebe mit konventioneller Schweinehaltung. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht einiger Betriebsdaten.

Tabelle 2: Übersicht der Betriebsdaten der zwölf eingeschlossenen Betriebe, modifiziert nach BEISL (2020) (P/R = Parvo/Rotlauf, IAV = Influenza, Clos = Clostridien, GI = Glässerella parasuis)

| Betrieb | Bundesland | Betriebssystem | Impfungen Ferkel |
|---------|---------------------|----------------|------------------------------|
| 1 | Bayern | Mastbetrieb | PRRSV, PCV2, M. hyo |
| 2 | Bayern | Mastbetrieb | PCV2, M. hyo, GI |
| 3 | Bayern | Mastbetrieb | PRRSV, PCV2, M. hyo |
| 4 | Baden-Württemberg | Mastbetrieb | PRRSV, PCV2, M. hyo, APP |
| 5 | Baden-Württemberg | Mastbetrieb | PCV2, M. hyo, E. coli |
| 6 | Baden-Württemberg | Mastbetrieb | PRRSV, PCV2, M. hyo |
| 7 | Bayern | geschlossen | PCV2 |
| 8 | Bayern | geschlossen | PRRSV, PCV2, M. hyo |
| 9 | Schleswig-Holstein | Mastbetrieb | - |
| 10 | Nordrhein-Westfalen | geschlossen | PRRSV, PCV2, M. hyo, E. coli |
| 11 | Nordrhein-Westfalen | geschlossen | PRRSV, PCV2, M. hyo, APP, GI |
| 12 | Niedersachsen | geschlossen | PCV2, M. hyo |

3. Probennahme

Die Probennahme fand von September 2019 bis April 2020 statt. Es wurden insgesamt 624 Wischproben genommen. Pro Betrieb lagen 52 Wischproben aus den beiden Beprobungen vor. Die Anzahl der genommenen Wischproben pro Gegenstand, Bucht und Bestand können der Tabelle 3 entnommen werden.

Tabelle 3: Anzahl der genommenen Wischproben pro Bucht (n = 3/Bestand) und Bestand (n = 12) aufgeführt für die sechs untersuchten Gegenstände sowie die jeweilige Gesamtanzahl der Wischproben pro Beprobung (n = 2)

| Gegenstände | Anzahl/ Bucht | Anzahl/ Bestand | Gesamt/ Beprobung |
|---------------------------|------------------|--------------------|----------------------|
| Futtertröge | 3 | 9 | 108 |
| Buchtenwände | 3 | 9 | 108 |
| Nippeltränken | 1 | 3 | 36 |
| Beschäftigungsmaterialien | 1 | 3 | 36 |
| Stiefel | - | 1 | 12 |
| Treibbretter | - | 1 | 12 |
| Summe | 8 | 26 | 312 |

3.1. Wischproben

Für die Wischproben wurde je ein Gaze-Tupfer (Gazin® Mullkompressen 10 x 10 cm – 8-fach, unsteril, Lohmann & Rauscher GmbH & Co. KG, Neuwied, Deutschland) in 8 ml Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS-Lösung) (Roti®-CELL PBS, CELLPURE® ready-to-use, steril, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) getränkt. Die beiden Komponenten wurden kurz vor der Probennahme in einem verschließbaren Schutzgefäß (Viereck-Versandflasche 117 x 35 mm, Öffnungsdurchmesser 28 mm, mit beiliegendem Verschluss, SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland) zusammengeführt.

Die Beprobung wurde von zwei Personen durchgeführt. Vor Ort wurde das Probengefäß der probennehmenden Person so dargereicht, dass diese mit einer behandschuhten Hand (Einmalhandschuhe Latex Top, Albert Kerbl GmbH, Buchbach, Deutschland) den feuchten Tupfer entnehmen konnte, ohne das Probengefäß zu berühren. Folgend wurde der zu beprobende Gegenstand mittels wischenden Bewegungen beprobt. Die so angefertigte Wischprobe wurde in ein beschriftetes Fleischsafttröhrchen (Fleischsafttrichter montiert, ohne Etikett, KABE LABORTECHNIK GmbH, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) überführt. Diese Vorgehensweise wurde für jede Wischprobe angewandt. Für jede Wischprobe wurde ein

neues Paar Einmalhandschuhe benutzt.

3.2. Beprobte Gegenstände

Es wurden sowohl Gegenstände beprobt, die in einem direkten bzw. kontinuierlichem Kontakt mit den Mastschweinen standen (Futtertröge, Buchtenwände, Nippeltränken und Beschäftigungsmaterialien), als auch Gegenstände die keinen permanenten Kontakt zu den Tieren hatten und sich außerhalb der Buchten bzw. der Abteile befanden (Treibbretter, Stiefel).

Die flächigen Gegenstände (Futtertröge und Buchtenwänden) wurden mittels einer Schablone in DIN A4 Größe, entspricht einer Fläche von 623,7 cm², beprobt. Die Schablone wurde so designt, dass um diese Fläche ein zusätzlicher Saum von 1 cm Breite vorhanden war, sodass der Rand der Schablone bei der Probennahme nicht mit dem Tupfer berührt wurde, aber dennoch die DIN A4 Fläche beprobt werden konnte. So wurde eine Kontamination über die Schablone vermieden. Die Schablone wurde pro Betrieb und Beprobung gewechselt. Die flächigen Gegenstände wurden pro Bucht dreimal beprobt. Treibbretter und Stiefel wurden ebenfalls mit einer Schablone beprobt. Die Nippeltränken und die Beschäftigungsmaterialien wurden auf einer Länge von 30 cm abgewischt.

3.2.1. Futtertröge

In allen zwölf Betrieben handelte es sich um fest installierte Futtertröge aus Edelstahl mit mehreren Fressplätzen. Diese Futtertröge befanden sich entweder an einer Buchtenseite oder freistehend in der Bucht und somit von zwei Seiten für die Mastschweine zugänglich. Jeder Futtertrog wurde an drei nicht aneinandergrenzenden Stellen mittels oben beschriebener Schablone beprobt.

3.2.2. Buchtenwände

In jeder Bucht wurden drei der vier Buchtenwände ausgesucht. Befand sich an einer der Buchtenwände der Futtertrog, wurden die verbleibenden drei Wände beprobt. Diese bestanden meist aus gefliesten Wänden, abgeschliffenem Beton oder aus handelsüblichem PVC-Trennwänden.

3.2.3. Nippeltränken

Bei den Nippeltränken handelte es sich ausschließlich um sogenannte Beißnippel, welche aus Edelstahl bestehen und durch lange Edelstahlrohre mit einem Wasseranschluss verbunden sind. Pro Bucht waren ein bis zwei Beißnippel installiert. Diese Tränken wurden auf einer Länge von 30 cm mit dem feuchten Tupfer zweimal von oben nach unten abgewischt und der Hohlraum des Beißnippels einmal ausgewischt.

3.2.4. Beschäftigungsmaterial

Die Beschäftigungsmaterialien der beprobten Bestände bestanden aus unterschiedlichen Materialien. Überwiegend waren Edelstahlketten vorhanden, welche Anhänge aus Hartplastik, wie Kugeln oder Stäbe, besaßen. Einige Betriebe verwendeten längliche Holzstücke, die nicht ausgetauscht wurden und somit ebenfalls in die Studie aufgenommen werden konnten.

3.2.5. Stiefel

Es wurde einer der betriebseigenen Gummistiefel mittels Schablone am seitlichen Stiefelschaft beprobt.

3.2.6. Treibbrett

Die aus Polyethylen bestehenden Treibbretter befanden sich in allen zwölf Betrieben im Stallgang, außerhalb der beprobten Abteile. Die Bretter wurden mit Hilfe einer Schablone an einer Stelle, mittig des Bretts, auf etwa der Schulterhöhe eines Endmastschweins, abgewischt.

3.3. Verarbeitung und Lagerung der Proben

Die in den beschrifteten Fleischsafröhrchen befindlichen Gaze-Tupfer wurden am Tag der Probennahme in der Klinik für Schweine für 10 min bei 20°C bei 2000 U/min (entspricht 1560 G) zentrifugiert (Rotana 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland). Die dadurch gewonnene Probenflüssigkeit, 4 - 5 ml pro Tupfer, wurde in beschriftete Reaktionsgefäße mit einem Fassungsvermögen von 1,5 ml (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, 1,5 ml, Eppendorf Quality™, farblos, Eppendorfer AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert. Sofern genügend Probenflüssigkeit vorhanden war, wurden Rückstellproben in analoger

Weise aufbereitet. Zusätzlich wurde von den Proben der Futtertröge und der Buchtenwände pro Bucht eine Pool-Probe angefertigt. Dafür wurden aus den drei Proben einer Bucht jeweils 333 µl entnommen und in ein beschriftetes Reaktionsgefäß mit einem Fassungsvermögen von 1,5 ml (Eppendorf® Safe-Lock Tubes, 1,5 ml, Eppendorf Quality™, farblos, Eppendorfer AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert.

Alle Proben wurden bis zur labordiagnostischen Untersuchung bei -20°C in der Klinik für Schweine gelagert. Die weitere Bearbeitung erfolgte am Lehrstuhl für Virologie, Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der LMU München (siehe Kapitel III.5.)

4. Erfassung der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen

Jeder der zwölf Betriebsleiter wurde gebeten, einen für die Studie erstellten Fragenbogen auszufüllen. Neben dem Betriebsmanagement und der Belegung der Mastabteile, wurde so das genaue Vorgehen der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen in den Betrieben erhoben. Es wurde erfragt, ob vor der Nassreinigung eine grobe Vorreinigung der Ställe vorgenommen wurde und wenn ja, was diese beinhaltet. Weiterhin wurde erhoben, ob ein Einweichen der schmutzigen Abteile stattfand und wie lange dieser Prozess dauerte. Die Verwendung von einer Einweichenanlage und von Einweichschaum wurde ebenfalls notiert. Außerdem sollte das verwendete Wasser einer Herkunft und einer Temperatur zugeordnet werden. Die Verwendung eines Hochdruckreinigers wurde ebenfalls erfasst. Falls eine Desinfektion des Abteils den Reinigungsmaßnahmen angeschlossen wurde, wurde erfragt, wie lang die Zeit zwischen diesen beiden Arbeitsschritten war und ob vor dem Beginn der Desinfektion eine Temperaturkontrolle vorgenommen wurde. Informationen zum verwendeten Desinfektionsmittel wurden mitsamt der Einwirkdauer, der Konzentration, der Art der Anwendung (flüssig oder schaumig) und dem anwendenden Personal (intern oder extern) erhoben. Ob eine Desinfektion der Gülle, eine Schadnager- und Fliegenbekämpfung vorgenommen wurde, wurde ebenfalls durch den Fragenbogen erfasst.

Die Informationen der ausgefüllten Fragebögen sind tabellarisch in Kapitel IV.1.4. und IV.1.5. dargestellt.

Der Fragebogen ist im Anhang zu finden.

5. Molekularbiologische Untersuchungen

Die molekularbiologische Untersuchung der gewonnenen Flüssigkeiten erfolgte in dem Labor des Lehrstuhls für Virologie des Instituts für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität. Die Proben wurden mittels quantitativer PCR (qPCR) auf PCV2-spezifische Genomfragmente untersucht. Die Proben der Futtertröge und der Buchtenwände wurden in Pools pro Bucht untersucht, sodass 28 Proben pro Betrieb untersucht wurden, 14 Proben aus dem nicht gereinigten Abteil und 14 Proben aus dem sauberen Stall. Somit wurden insgesamt 336 Proben untersucht.

5.1. Extraktion viraler DNA

Die Extraktion der viralen DNA erfolgte mit dem kommerziell erhältlichen NucleoSpin® 8 Virus Core Kit (Machery-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) nach Herstellerangaben. Der vom Hersteller empfohlene Schritt des Proteinase-K-Verdau wurde ebenfalls vorgenommen. Durchgeführt wurden die einzelnen Pipettier-Schritte von dem Roboter Microlab® STAR^{Let} (Hamilton Life Science Robotics GmbH, Martinsried, Deutschland). Es wurden 100 µl der Probenflüssigkeit zusammen mit 400 µl RAV1 Puffer (Lysis Buffer) und 20 µl Proteinase K für zehn Minuten auf einer Heizplatte bei 70°C inkubiert. Anschließend wurde dem Lysat 400 µl Ethanol 96% zugesetzt und nach sorgfältiger Vermischung wurde das Gemisch in die NucleoSpin® Virus Binding Strips pipettiert. Durch ein angelegtes Vakuum wurde die Probenflüssigkeit durch die Silikat-Membran der NucleoSpin® Virus Binding Strips gesaugt und die freien DNA-Fragmente durch Ionenbindung gebunden. Die drei anschließenden vakuumgetriebenen Waschschrte erfolgten mit den Puffern RAW und RAV3. Mittels eines auf 70°C erwärmten Elutionspuffers erfolgte, nach einer einminütigen Inkubationszeit, die Elution der gebundenen DNA. Die eluierte DNA wurde anschließend durch ein erneut aufgebautes Vakuum von der Silikat-Membran gelöst und in vorbereitete,

beschriftete Elution Tubes überführt. Auf diese Weise erfolgte die Aufreinigung von 48 Proben pro Durchgang.

5.2. Pan-PCV2-qPCR

Zum Nachweis PCV2-spezifischer Genomfragmente wurde die extrahierte DNA mittels qPCR nach ZHAO et al. (2010) modifiziert nach EDDICKS et al. (2016) untersucht (Primer F: 5'-CGG ATA TTG TAK TCC TGG TCG TA, Primer R1: 5'-CCT GTY CTW GAT TCC ACT ATT GAT T, Primer R2: 5'-CCT GTC CTW GAT AGG ACA ATC GAT T, Sonde: Fam-CGA GGC CTA CRT GGT CYA CAT TTC-BHQ1).

Für die qPCR wurde das Luna Universal Probe qPCR Master Kit (New England Biolabs) verwendet. Je 4 µl des Eluates wurden mit 10 µl Luna Universal Master Mix, 4,4 µl RNase-freiem Wasser und 1,6 µl Primer-Sonden-Mix vermischt. Die PCR wurde mit dem AriaMx Real-time PCR System G8830A-MY19295256 (Agilent Technologies, Santa Clara CA, United States) unter dem in Tabelle 4 dargestellten Temperaturprofil durchgeführt.

Tabelle 4: Temperaturprotokoll der durchgeführten real-time qPCR nach ZHAO et al. (2010) modifiziert nach EDDICKS et al. (2016)

| Zykeln | Aktivität | Zeit | Temperatur |
|--------|-----------------------|--------|------------|
| 1 | Polymeraseaktivierung | 1 min | 95°C |
| 42 | Denaturierung | 15 sec | 94°C |
| | Annealing/Extension | 1 min | 60°C |

In jedem Durchlauf wurden eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle zur Überprüfung der Reaktion verwendet. Die gemessenen Ergebnisse wurden in Cycle threshold-Werten (Ct-Werte) dargestellt. Ct-Werte < 30 wurden als deutlich positiv gewertet, Ct-Werte zwischen 30 – 34,9 als positiv, Ct-Werte zwischen 35 - 39,9 als schwach positiv und Ct-Werte ≥ 40 galten als negativ.

6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit IBM SPSS Statistics® Version 26.0 (IBM® SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Die deskriptiven Grafiken wurden mit Microsoft Excel® (2016, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) erstellt.

Für die qualitative Auswertung wurden die untersuchten Gegenstände als statistische Einheit angesehen.

Für die durchgeführten Tests wurde ein Signifikanzniveau von 5% ($p = 0,05$) bei einem Konfidenzintervall von 95% festgelegt.

Um die Ergebnisse deskriptiv auswerten zu können, wurden Minimalwerte (Min) und Maximalwerte (Max) angegeben, sowie Mittelwerte (MW) und die Standardabweichung (SD) berechnet. Um potentielle Zusammenhänge zwischen den abhängigen Variablen (Futtertröge, Buchtenwände, Nippeltränken, Beschäftigungsmaterialien, Stiefel, Treibbretter; Nachweis: positiv, negativ) und den unabhängigen Variablen (ungereinigt, gereinigt; nur Reinigung, Reinigung und Desinfektion) wurden die Daten mittels Kreuztabellen und Chi-Quadrat-Test nach Pearson ausgewertet. Skalierte Daten (Ct-Werte als abhängige Variablen) wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet.

Da jeweils dieselben Buchten beprobt wurden, wurden die Ergebnisse als verbundene Stichproben behandelt und für die Auswertung skalierten Daten der Wilcoxon-Test für nicht parametrische Daten angewandt. Da bei diesem Test eine gerichtete Hypothese (Wirkungsvermutung) vorlag, wurde der Test auf Signifikanz einseitig durchgeführt und daher der α -Wert an dieser Stelle auf 0,025 korrigiert.

IV. ERGEBNISSE

1. Deskriptive Auswertung der Studienbetriebe

Die deskriptive Darstellung der zwölf Studienbetriebe basiert auf der Auswertung der Fragebögen (Anhang) und den Ergebnissen der vorgeschalteten Untersuchung im Rahmen der Dissertation (BEISL, 2020).

1.1. Betriebsform

Von den teilnehmenden Studienbetrieben waren 7/12 (58%) reine Mastbetriebe, 5/12 (42%) Betrieben wirtschafteten im geschlossenen System.

1.2. Betriebsmanagement

Alle zwölf Betriebe führten in ihren Mastställen eine Rein-Raus-Belegung durch, wobei 10/12 (83%) Beständen dieses Verfahren abteilweise durchführten und 2/12 (17%) dieses System stallweise nutzten.

1.3. Ergebnisse der Voruntersuchung mittels Oral Fluids

In der vorgeschalteten Studie (BEISL, 2020) wurden Oral Fluid Proben der ausgewählten Betriebe molekularbiologisch auf PCV2-DNA untersucht und bei einem positiven Ergebnis eine genotyp-spezifische qPCR verwendet. Die Untersuchung wurde in dem Zeitraum Februar 2019 bis Dezember 2019 durchgeführt. Für alle zwölf Betriebe konnte ein Genotyp ermittelt werden. Der niedrigste Ct-Wert (21,00) und der niedrigste mittlere Ct-Wert (29,40) lagen in Betrieb 1 vor. Beide Werte sind als deutlich positiv zu werten. In Betrieb 1 konnte in 13/13 Kaustrieken PCV2-DNA nachgewiesen werden. Der höchste Ct-Wert (39,90) und der höchste mittlere Ct-Wert (39,40) waren in Betrieb 3 zu finden. Diese Werte sind sehr schwach positiv. Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse der molekularbiologischen Auswertung der Oral Fluid Proben, die detektierten DNA-Mengen sind in Ct-Werten angegeben.

Tabelle 5: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Oral Fluids der Betriebe 1 - 12, modifiziert nach BEISL (2020) (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung)

| Betrieb | Anzahl positive OF | Min Ct-Wert | Max Ct-Wert | MW Ct-Wert | SD |
|---------|--------------------|-------------|-------------|------------|-----|
| 1 | 13/13 | 21,00 | 32,70 | 29,40 | 2,9 |
| 2 | 14/15 | 31,30 | 37,80 | 35,00 | 2,6 |
| 3 | 9/18 | 33,00 | 39,90 | 39,40 | 2,2 |
| 4 | 18/18 | 32,30 | 35,40 | 33,50 | 0,8 |
| 5 | 7/15 | 29,70 | 39,10 | 38,10 | 3,5 |
| 6 | 14/17 | 31,90 | 38,40 | 37,40 | 1,5 |
| 7 | 8/10 | 26,70 | 37,40 | 35,60 | 3,2 |
| 8 | 5/20 | 33,90 | 37,90 | 38,80 | 1,5 |
| 9 | 14/14 | 28,10 | 37,10 | 32,90 | 2,6 |
| 10 | 10/10 | 30,30 | 34,30 | 31,80 | 1,2 |
| 11 | 4/15 | 27,40 | 28,40 | 30,90 | 0,5 |
| 12 | 16/16 | 24,30 | 37,10 | 29,50 | 3,2 |

1.4. Reinigung

Alle zwölf Betriebe führten im Rahmen der Rein-Raus-Belegung eine Reinigung der Abteile nach dem Ausstallen der Endmastschweine durch. Das individuelle Vorgehen hinsichtlich der Reinigungsmaßnahmen wurde in dem Fragebogen erfasst. Die Ergebnisse sind im Folgenden dargestellt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Vorgehen der zwölf Betriebe im Rahmen der Reinigung der Mastabteile

| Betrieb | Vorreinigung | Einweichen | Einweichanlage | Einweichschaum | Einweichdauer in h | Vorwäsche | Wasserherkunft | Wassertemperatur | Hochdruck-reiniger |
|---------|--------------|------------|----------------|----------------|--------------------|-----------|-----------------|------------------|--------------------|
| 1 | - | ja | ja | - | 10 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 2 | - | ja | ja | ja | 6 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 3 | - | ja | ja | - | 24 | - | kommunal | kalt | ja |
| 4 | - | ja | ja | ja | 18 | - | Regenwasser | kalt | ja |
| 5 | - | ja | ja | - | 2 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 6 | - | ja | ja | - | 24 | ja | kommunal | kalt | ja |
| 7 | ja | ja | - | - | 4 | - | kommunal | kalt | ja |
| 8 | - | ja | ja | - | 20 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 9 | - | ja | ja | - | 3 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 10 | - | - | - | - | 0 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 11 | - | ja | ja | - | 3 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |
| 12 | - | ja | ja | ja | 1 | - | eigener Brunnen | kalt | ja |

1.5. Desinfektion

Eine an die Reinigung angeschlossene Desinfektion führten sieben der zwölf Betriebe (58%) durch. Die Betriebsleiter der anderen fünf Betriebe (42%) gaben an, keine Desinfektion der Ställe durchzuführen. In allen sieben Betrieben wurde die Desinfektion der Abteile durch internes Personal durchgeführt. Betrieb 2 trug das Desinfektionsmittel unmittelbar nach der Reinigung auf. Weitere Informationen zur Desinfektion sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Angaben aus dem Fragenbogen zu den Desinfektionsmaßnahmen der zwölf Betriebe

| Betrieb | Zeit zwischen R + D (in h) | Temperaturkontrolle | Präparat | Wirkstoffe | Einwirkzeit | Konzentration | Anwendung | Anwender |
|---------|----------------------------|---------------------|--------------------|---|-------------|---------------|-----------|----------|
| 1 | k.A. | ja | Venno® Vet 1 | Organische Säuren | trocknet | k.A. | schaumig | intern |
| 2 | 0 | nein | Incimaxx® DES-N | Sauerstoffabspalter, Organische Säuren | trocknet | k.A. | schaumig | intern |
| 3 | | | | | | | | |
| 4 | 8 | ja | MS Megades Novo | Aldehyde, Quaternäre Ammoniumverbindungen | trocknet | k.A. | schaumig | intern |
| 5 | | | | | | | | |
| 6 | 24 | nein | Neopredisan® 135-1 | Kresole | trocknet | 2% | flüssig | intern |
| 7 | 12 | nein | Venno® Vet 1 | Organische Säuren | trocknet | 2% | schaumig | intern |
| 8 | | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | |
| 11 | 16 | ja | VIROCID® | Aldehyde, Quaternäre Ammoniumverbindungen | trocknet | k.A. | schaumig | intern |
| 12 | 24 | nein | Lerasept® Vet 100 | Aldehyde, Quaternäre Ammoniumverbindungen | trocknet | 0,5% | flüssig | intern |

2. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung

Im Folgenden werden die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Wischproben dargestellt. Insgesamt wurden 624 Wischproben aus zwölf Betrieben genommen. Die Wischproben der Futtertröge und der Buchtenwände wurden pro Bucht im Pool (drei Wischproben/Pool) untersucht, sodass pro Bestand drei Poolproben der Futtertröge und drei Poolproben der Buchtenwände vorlagen. Somit wurden insgesamt 336 Proben mittels real-time PCR auf die Anwesenheit von PCV2-Genomfragmenten untersucht.

2.1. Auswertung aller Proben

Bei 36% (121/336) aller Proben gelang der Nachweis von PCV2-DNA. Die 121 positiven Proben verteilten sich auf zehn (83%) der zwölf Betriebe. Für die Betriebe 8 und 12 lag in keiner der untersuchten Proben ein positives Ergebnis vor.

Da in den Betrieben 8 und 12 keine PCV2-spezifischen Genomfragmente detektiert wurden, wurden die Proben dieser Betriebe für die weitere Betrachtung der Ergebnisse exkludiert, sodass nur PCV2-positive Betriebe (n = 10) in die Auswertung aufgenommen wurden. Im Folgenden wird demnach eine Gesamtheit von 280 Proben aus zehn Betrieben ausgewertet.

Für jeden der sechs untersuchten Gegenstände konnte mindestens eine positive Probe nachgewiesen werden. Die Nachweisrate der PCV2-DNA war bei den Stiefeln mit 70,0% (14/20) insgesamt am höchsten. Die zweithöchste Nachweisrate hatten die Buchtenwände mit 46,7% (28/60) und die dritthöchste Nachweiserate die Futtertröge (24/60), die Beschäftigungsmaterialien (24/30) und die Treibbretter (8/20) mit jeweils 40,0%. Die Nachweisraten (in %) der positiven und negativen Proben der untersuchten Gegenstände (n = 60, Stiefel und Treibbretter: n = 20) sind in Abbildung 1 dargestellt.

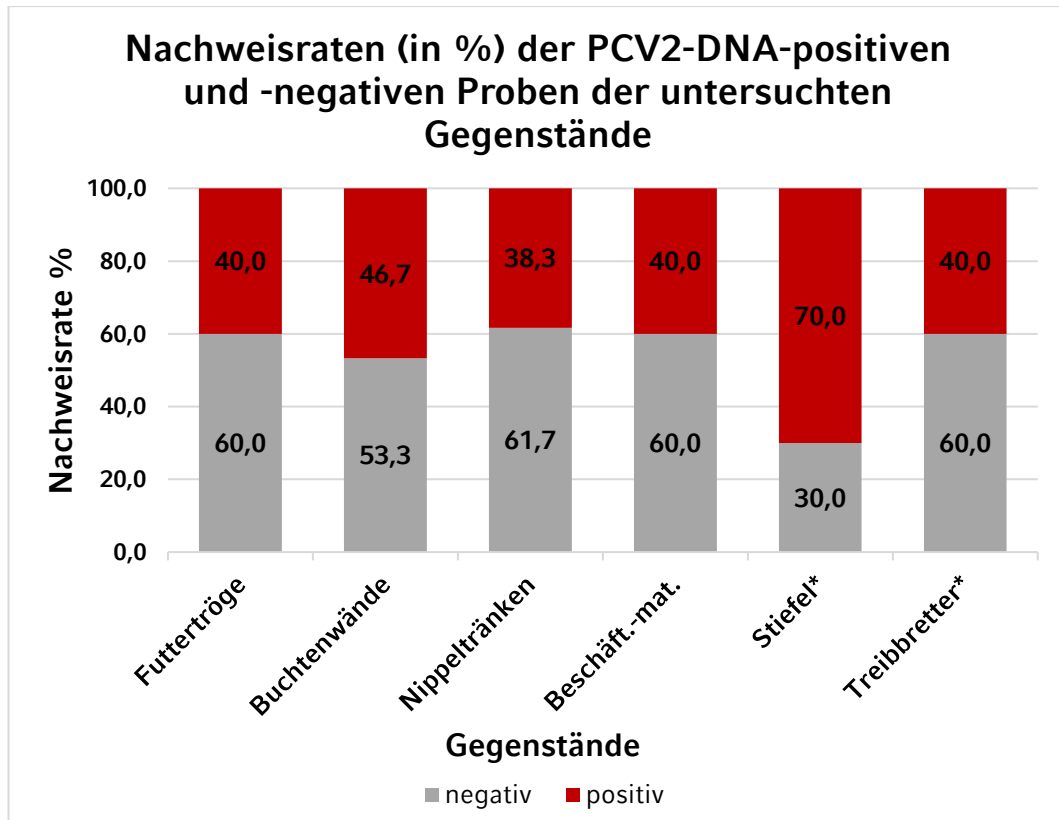


Abbildung 1: Nachweisraten (in %) der PCV2-DNA-positiven und -negativen Proben der untersuchten Gegenstände (n = 60; *n = 20) (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien)

Negativen Proben wurde ein Ct-Wert ≥ 40 (Kategorie I) zugeteilt. Ct-Werte von 35 – 39,9 gehören der Kategorie II (schwach positiv) an, Ct-Werte von 30 – 34,9 der Kategorie III (positiv) und Ct-Werte < 30 der Kategorie IV (deutlich positiv). Der größte Anteil der Ct-Werte positiver Proben fällt auf die schwach positiven Ct-Werte (Kategorie II: Ct = 35 – 39,9). Der Abbildung 2 kann die prozentuale Verteilung der 280 untersuchten Proben auf die vier oben genannten Ct-Wert-Kategorien entnommen werden.

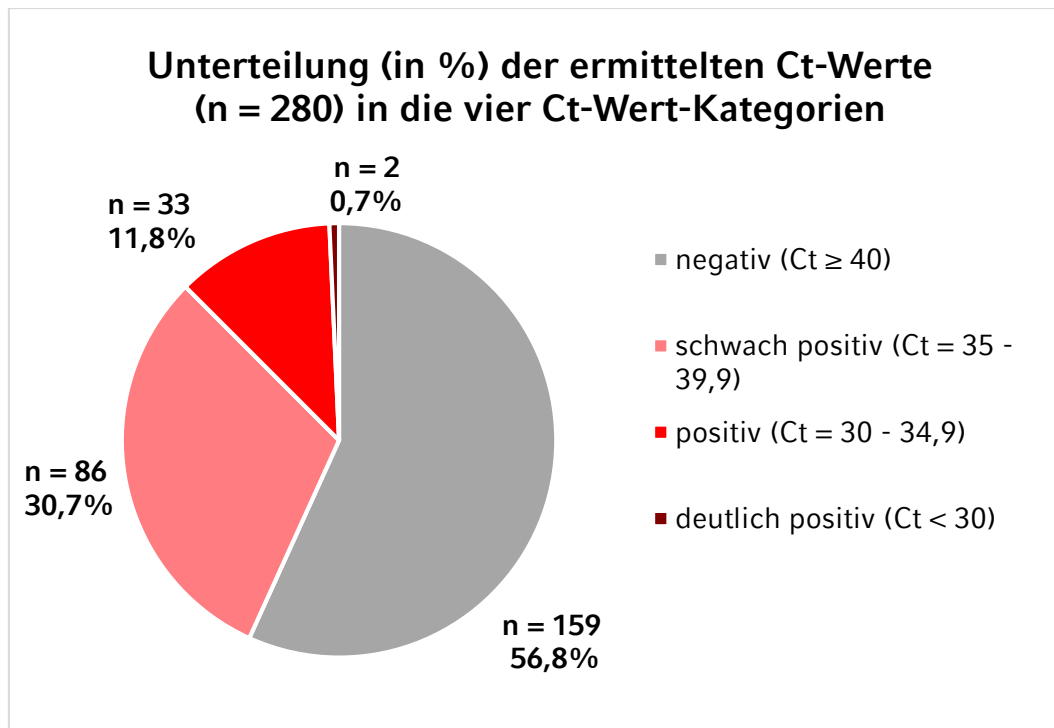


Abbildung 2: Unterteilung (in %) der ermittelten Ct-Werte (n = 280) aus PCV2-positiven Beständen (n = 10) in vier Ct-Wert-Kategorien (Kategorie I: negativ ($Ct \geq 40$), Kategorie II: schwach positiv ($Ct = 35 - 39,9$), Kategorie III: positiv ($Ct = 30 - 34,9$), Kategorie IV: deutlich positiv ($Ct < 30$))

2.2. Vergleichende Auswertung der Ergebnisse aus der ersten und der zweiten Beprobung

In den Proben aus den nicht gereinigten Abteilen (erste Beprobung) konnte PCV2-DNA häufiger nachgewiesen werden als in den Proben der zweiten Beprobung. So waren 61,4% (86/140) der Proben aus den ungereinigten und 25,0% (35/140) der Proben aus den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen positiv.

Die Nachweisrate der PCV2-DNA war in den Proben der zweiten Probennahme (nachher) für jede untersuchte Gegenstands-Gruppe geringer. Der größte Unterschied war bei den Buchtenwänden zu beobachten, hier reduzierte sich die Nachweisrate von 80,0% in der ersten Beprobung auf 13,3% in der zweiten Beprobung. Den kleinsten Unterschied wiesen die Stiefel, die Treibbretter und die Futtertröge auf, hier reduzierte sich die Nachweisrate um jeweils 20,0%. Abbildung 3 zeigt die Nachweisraten (in %) der positiven Proben aus den PCV2-positiven

Beständen (n = 10) in einem Vorher-Nachher-Vergleich.

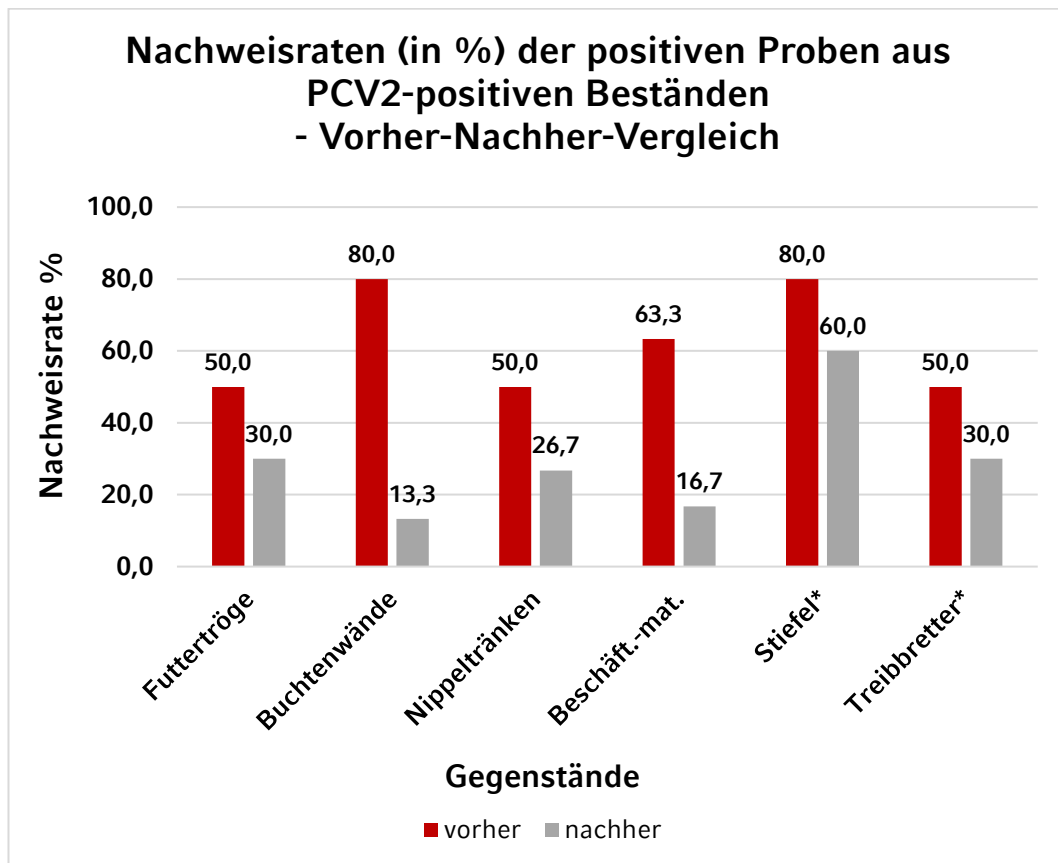


Abbildung 3: Nachweisraten (in %) der positiven Proben aus den PCV2-positiven Betrieben (n = 10) im Vorher-Nachher-Vergleich, aufgeführt für die sechs untersuchten Gegenstands-Gruppen (n = 30; *n = 10) (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien)

Mittels statistischer Auswertung für verbundene Stichproben (Wilcoxon-Test) konnte insgesamt für 82 der 86 positiven Proben aus der ersten Untersuchung eine Ct-Wert-Erhöhung ermittelt werden. Im Gegensatz dazu wurde für 13/140 (9,3%) Proben ein niedrigerer Ct-Wert ermittelt.

2.3. Deskriptive Auswertung auf Ebene der Betriebe

Im Folgenden werden die Ergebnisse der zehn PCV2-positiven Betriebe detaillierter dargestellt. Daraufgehend bieten die Tabelle 18 und die Tabelle 19 eine Übersicht dieser Ergebnisse. In den Betrieben 8 und 12 konnte in keiner der untersuchten Proben PCV2-DNA nachgewiesen werden, daher können keine Ergebnisse für die beiden Betriebe dargestellt werden.

2.3.1. Betrieb 1

Die Probennahme erfolgte vier Monate nach der Untersuchung der OFs (BEISL, 2020). In insgesamt 19/28 (79,2%) Wischproben konnte PCV2-DNA nachgewiesen werden. 9/14 (64,3%) Proben aus dem ungereinigten Abteil und 10/14 (71,4%) Proben aus dem gereinigten und desinfizierten Abteil waren positiv. Die Ct-Werte der beiden Beprobungen, die Mittelwerte und die Standardabweichungen können der Tabelle 8 entnommen werden.

Tabelle 8: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des ersten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 1 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | 38,27 |
| | Buchtenwand | n.n. | 37,62 |
| | Nippeltränke | n.n. | 35,73 |
| | Beschäftigungsmaterial | 35,87 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 36,42 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | 36,11 |
| | Beschäftigungsmaterial | 38,92 | 37,81 |
| Bucht 3 | Futtertrog | 34,31 | 37,04 |
| | Buchtenwand | 31,43 | n.n. |
| | Nippeltränke | 35,66 | 37,49 |
| | Beschäftigungsmaterial | 33,51 | 34,25 |
| | Stiefel | 34,54 | 35,86 |
| | Treibbrett | 33,83 | 33,81 |
| MW | | 34,94 | 36,40 |
| SD | | 2,11 | 1,52 |

2.3.2. Betrieb 2

Die Beprobung des Mastabteils erfolgte zwei Monate nach der Untersuchung der Studie BEISL (2020). In Betrieb 2 konnte in 11/28 (39,3%) Proben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Dabei waren acht von

14 (57,1%) Proben aus dem ungereinigten Abteil und 3/14 (21,4%) Proben aus dem gereinigten und desinfizierten Abteil positiv. Tabelle 9 zeigt die Ct-Werte der positiven Proben aus den beiden Beprobungen sowie die Mittelwerte und die Standardabweichungen.

Tabelle 9: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des zweiten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 2 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | n.n. | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 37,51 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 23,75 | 36,61 |
| | Buchtenwand | 36,72 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | n.n. | 36,63 |
| | Buchtenwand | 36,67 | n.n. |
| | Nippeltränke | 33,38 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 38,40 | 38,23 |
| | Stiefel | 34,15 | n.n. |
| | Treibbrett | 37,88 | n.n. |
| | MW | 34,81 | 37,16 |
| | SD | 4,80 | 0,93 |

2.3.3. Betrieb 3

Die Probennahme des Abteils in Betrieb 3 erfolgte sechs Monate nach der Untersuchung der Studie BEISL (2020). Es konnte in 14/28 (50,0%) Proben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Vor der Reinigung wurde in zehn (71,4%) Wischproben Virus-DNA nachgewiesen. Nach der Reinigung waren 4/14 (28,6%) Proben positiv. Betrieb 3 führte keine routinemäßige Desinfektion des Abteils durch. Die Ct-Werte der positiven Proben und deren Mittelwerte sowie die Standardabweichungen sind in

Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des dritten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 3 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | 38,18 | 39,06 |
| | Buchtenwand | 38,60 | n.n. |
| | Nippeltränke | 37,32 | 39,39 |
| | Beschäftigungsmaterial | 39,49 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 37,88 | n.n. |
| | Buchtenwand | 34,06 | n.n. |
| | Nippeltränke | 37,59 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 34,52 | 38,03 |
| Bucht 3 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 39,36 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| | Stiefel | 37,85 | n.n. |
| | Treibbrett | n.n. | 38,90 |
| MW | | 37,12 | 38,05 |
| SD | | 2,10 | 0,58 |

2.3.4. Betrieb 4

Die Beprobung des Mastbetriebs erfolgte neun Monate nach der Untersuchung mittels Oral Fluids. Insgesamt konnte in 13/28 (46,4%) Proben PCV2-DNA nachgewiesen. In dem ungereinigten Abteil waren 10/14 (71,4%) Proben positiv. Nach der Reinigung und Desinfektion konnte in drei Proben (21,4%) PCV2-DNA nachgewiesen werden. Die Ct-Werte der positiven Proben sowie die Mittelwerte und die Standardabweichungen der beiden Probennahmen sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des vierten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 4 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | 36,06 | 39,43 |
| | Buchtenwand | 33,92 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 39,42 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 37,93 | n.n. |
| | Buchtenwand | 34,96 | n.n. |
| | Nippeltränke | 37,93 | 37,60 |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | 38,98 | n.n. |
| | Buchtenwand | 35,24 | n.n. |
| | Nippeltränke | 37,89 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| | Stiefel | 37,82 | 38,82 |
| | Treibbrett | n.n. | n.n. |
| | MW | 37,01 | 38,62 |
| | SD | 1,85 | 0,93 |

2.3.5. Betrieb 5

Dieser Betrieb wurde neun Monate nach der Beprobung mittels Kaustrieken (BEISL, 2020) durch die Wischproben beprobt. In insgesamt 12/28 (46,4%) Proben wurde PCV2-DNA nachgewiesen. 11/14 (78,6%) aus dem ungereinigten Abteil enthielten PCV2-Genomfragmente. Nach der Reinigung konnte in zwei von 14 (14,3%) Proben Virus-DNA nachgewiesen werden. Eine Desinfektion der Abteile wird in diesem Betrieb nicht vorgenommen. Folgend sind die Ct-Werte der beiden Untersuchungen sowie die Mittelwerte und die Standardabweichung aufgeführt (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des fünften Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 5 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 38,61 | n.n. |
| | Nippeltränke | 39,97 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 34,62 | 39,09 |
| | Buchtenwand | 34,71 | n.n. |
| | Nippeltränke | 37,48 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 37,20 | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | 39,63 | n.n. |
| | Buchtenwand | 36,04 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 38,16 | n.n. |
| | Stiefel | 33,66 | 37,86 |
| | Treibbrett | 37,31 | n.n. |
| | MW | 37,41 | 38,48 |
| | SD | 1,75 | 0,87 |

2.3.6. Betrieb 6

Der Mastbetrieb wurde sechs Monate nach der Untersuchung für die Dissertation BEISL (2020) beprobt. In 2/28 (7,1%) Proben konnte PCV2-DNA nachgewiesen werden. Beide positiven Proben entstammten der ersten Probennahme. In den 14 Proben aus dem gereinigten und desinfizierten Abteil konnte keine PCV2-DNA detektiert werden. Die Ct-Werte der positiven Proben, der Mittelwert und die Standardabweichung sind nachfolgend aufgeführt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des sechsten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 6 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|---------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | 38,34 | n.n. |
| | Buchtenwand | 34,17 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | n.n. | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | n.n. | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| | Stiefel | n.n. | n.n. |
| | Treibbrett | n.n. | n.n. |
| MW | | 36,25 | - |
| SD | | 2,95 | - |

2.3.7. Betrieb 7

Das Mastabteil des Betriebs mit geschlossenem System wurde sieben Monate nach der Beprobung mittels Kaustrieken (BEISL, 2020) untersucht. Insgesamt wurde in 12/28 (42,9%) Proben PCV2-DNA nachgewiesen. In dem ungereinigten Abteil waren 9/14 (64,3%) Proben und in dem gereinigten und desinfizierten Abteil 3/14 (21,4%) positiv. Tabelle 14 zeigt die Ct-Werte der positiven Proben, die Mittelwerte und die Standardabweichungen aus den beiden Beprobungen.

Tabelle 14: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des siebten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 7 | | Ct-Werte | |
|------------------|------------------------|-----------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 31,91 | n.n. |
| | Nippeltränke | 37,61 | 39,51 |
| | Beschäftigungsmaterial | 38,92 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 36,35 | n.n. |
| | Buchtenwand | 33,33 | n.n. |
| | Nippeltränke | 36,96 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 35,87 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| | Stiefel | 32,80 | 36,90 |
| | Treibbrett | 34,78 | 35,18 |
| | MW | 35,92 | 37,20 |
| | SD | 2,36 | 2,18 |

2.3.8. Betrieb 9

Elf Monate nach der Gewinnung der Oral Fluids wurde das Mastabteil beprobt. Es konnte in 13/28 (46,4%) Proben Virus-DNA nachgewiesen werden. Neun von 14 (78,6%) der Proben aus dem ungereinigten Abteil enthielten PCV2-DNA. Nach der Reinigung konnte noch in zwei Proben (14,3%) DNA detektiert werden. Eine routinemäßige Desinfektion des Mastabteils wurde in dem Bestand mit geschlossenem System nicht durchgeführt. Die Ct-Werte der positiven Proben, die Mittelwerte und die Standardabweichungen sind nachfolgend aufgeführt (Tabelle 15).

Tabelle 15: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des neunten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 9 | | Ct-Werte | |
|-----------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 34,45 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 38,51 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 38,13 | n.n. |
| | Buchtenwand | 35,73 | n.n. |
| | Nippeltränke | 39,78 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 36,36 | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | 35,12 | n.n. |
| | Buchtenwand | 34,50 | 34,75 |
| | Nippeltränke | 39,37 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 36,01 | n.n. |
| | Stiefel | 31,42 | 38,74 |
| | Treibbrett | n.n. | n.n. |
| | MW | 36,31 | 36,74 |
| | SD | 2,49 | 2,82 |

2.3.9. Betrieb 10

Die Probennahme des Mastabteils wurde zehn Monate nach der Untersuchung für die Dissertation BEISL (2020) durchgeführt. In insgesamt 10/28 (35,7%) Proben wurde PCV2-DNA nachgewiesen. Dabei waren 6/14 (42,9%) Proben aus dem ungereinigten Abteil und 4/14 (28,6%) Proben aus dem gereinigten Abteil positiv. Die Mastabteile werden nach der Reinigung nicht desinfiziert. In der Tabelle 16 sind die Ct-Werte der positiven Proben, die Mittelwerte und die Standardabweichungen aus beiden Probennahmen aufgeführt.

Tabelle 16: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des zehnten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 10 | | Ct-Werte | |
|------------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | 38,27 |
| | Buchtenwand | n.n. | n.n. |
| | Nippeltränke | 36,36 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 30,85 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | n.n. | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | n.n. | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 33,08 | 37,96 |
| | Nippeltränke | 28,80 | 36,57 |
| | Beschäftigungsmaterial | 35,54 | n.n. |
| | Stiefel | n.n. | 35,19 |
| | Treibbrett | 33,38 | n.n. |
| | MW | 33,00 | 37,00 |
| | SD | 2,84 | 1,41 |

2.3.10. Betrieb 11

Die Beprobung durch Wischproben fand acht Monate nach der Untersuchung im Rahmen der Dissertation BEISL (2020) statt. Insgesamt konnte in 14/28 (50,0%) Proben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Dabei waren 10/14 (71,4%) Proben aus dem ungereinigten Abteil positiv. Nach der Reinigung und Desinfektion waren 4/14 Proben (28,6%) positiv. Nachfolgend sind die Ct-Werte der positiven Proben sowie die Mittelwerte und die Standardabweichungen aufgeführt (Tabelle 17).

Tabelle 17: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des elften Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)

| Betrieb 11 | | Ct-Werte | |
|------------|------------------------|--------------|--------------|
| | | vorher | nachher |
| Bucht 1 | Futtertrog | n.n. | n.n. |
| | Buchtenwand | 34,60 | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 36,82 | n.n. |
| Bucht 2 | Futtertrog | 37,51 | n.n. |
| | Buchtenwand | 36,49. | n.n. |
| | Nippeltränke | n.n. | 38,30 |
| | Beschäftigungsmaterial | 34,64 | n.n. |
| Bucht 3 | Futtertrog | 36,32 | 37,20 |
| | Buchtenwand | 32,81 | 38,18 |
| | Nippeltränke | 35,97 | n.n. |
| | Beschäftigungsmaterial | 32,14 | 37,26 |
| | Stiefel | 33,55 | n.n. |
| | Treibbrett | n.n. | n.n. |
| | MW | 35,09 | 37,74 |
| | SD | 1,82 | 0,59 |

2.3.11. Graphische Übersicht aller Ergebnisse

Einen Überblick aller untersuchten Proben ($n = 280$) aus den zehn PCV2-positiven Betrieben im Vorher-Nachher-Vergleich geben die Tabelle 18 und Tabelle 19. Die ermittelten Ct-Werte wurden mittels einer Farbkodierung dargestellt. Negative Proben (Ct-Wert ≥ 40 , Kategorie I) sind grau abgebildet. Ct-Werte von 35 – 39,9 (Kategorie II = schwach positiv) sind rosa dargestellt. Ct-Werte von 30 – 34,9 (Kategorie III = positiv) sind rot und Ct-Werte < 30 (Kategorie IV = deutlich positiv) werden dunkelrot dargestellt.

Tabelle 18: Darstellung der Ct-Werte (n = 240) der untersuchten Futtertröge, Buchtenwände, Nippeltränken und Beschäftigungsmaterialien aus der ersten (vor) und der zweiten (nach) Probennahme der zehn PCV2-positiven Betriebe anhand einer Farbkodierung (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien)

| Betrieb | Bucht | Futtertröge | | Buchtenwände | | Nippeltränken | | Beschäft.-mat. | |
|---------|-------|-------------|------|--------------|------|---------------|------|----------------|------|
| | | vor | nach | vor | nach | vor | nach | vor | nach |
| 1 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 2 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 3 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 4 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 5 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 6 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 7 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 9 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 10 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| 11 | 1 | | | | | | | | |
| | 2 | | | | | | | | |
| | 3 | | | | | | | | |
| Gesamt | | 15/30 | 9/30 | 24/30 | 4/30 | 15/30 | 8/30 | 19/30 | 5/30 |

Legende: Ct ≥ 40 Ct = 35 - 39,9 Ct = 30 - 34,9 Ct < 30

Tabelle 19: Darstellung der Ct-Werte (n = 40) der untersuchten Stiefel und Treibbretter aus der ersten (vor) und der zweiten (nach) Probennahme der zehn PCV2-positiven Betriebe in einem Ampel-System

| Betrieb | Stiefel | | Treibbretter | |
|---------------|---------|------|--------------|------|
| | vor | nach | vor | nach |
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| 4 | | | | |
| 5 | | | | |
| 6 | | | | |
| 7 | | | | |
| 9 | | | | |
| 10 | | | | |
| 11 | | | | |
| Gesamt | 8/10 | 6/10 | 5/10 | 3/10 |

Legende: Ct ≥ 40 Ct = 35 - 39,9 Ct = 30 - 34,9 Ct < 30

In Wischproben von neun zuvor negativ getesteten Objekten konnte in der zweiten Beprobung PCV2-DNA nachgewiesen werden. Vier dieser Objekte befanden sich in Betrieb 1, welcher eine Reinigung und Desinfektion des Mastabteils durchführte. Es handelte sich dabei um zwei Nippeltränken (Bucht 1 und 2) und die Buchtenwand-Poolprobe und die Futtertrog-Poolprobe der ersten Bucht. Außerdem waren in Betrieb 10 die Futtertrog-Poolprobe der ersten Bucht und der Stiefel von dem Wechsel zum positiven Ergebnis betroffen. Die Betriebe 2, 3 und 11 hatten ebenfalls je eines der neun zuvor negativen Gegenstände.

2.4. Korrelation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und den ungereinigten Mastabteilen

Alle zehn Betriebe führten im Rahmen der Rein-Raus-Belegung eine Reinigung der Abteile durch. Betrieb 7 gab an, eine grobe Vorreinigung in den Abteilen vorzunehmen. Ein Einweichen der Abteile mittels einer Einweichanlage führten 8/10 (80%) der Betriebe durch. Zwei dieser acht Betriebe gaben an, dabei Einweichschaum zu verwenden. Betrieb 7 führte ein manuelles Einweichen durch und Betrieb 10 nahm kein Einweichen

der Mastabteile des Bestands vor. Die Dauer des Vorgangs reichte von 0 Stunden (Betrieb 10) bis zu 24 Stunden (Betrieb 3). Der Tabelle 6 (Kapitel IV.1.4.) können die Einweichdauer in Stunden und die Wasserherkunft der zehn PCV2-positiven Betriebe entnommen werden. Alle zehn Betriebe verwendeten für die Nassreinigung kaltes Wasser und einen Hochdruckreiniger.

Die absoluten Häufigkeiten des Nachweises von PCV2-DNA aus der ersten Probennahme wurden mit den absoluten Häufigkeiten des Nachweises aus der zweiten Probennahme verglichen und statistisch ausgewertet. Demnach besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA in den ungereinigten Abteilen ($p < 0,001$). Die Chance (Odds-Ratio) PCV2-DNA nachzuweisen ist in ungereinigten Abteilen 4,71-mal so hoch wie in gereinigten Abteilen. Das 95%ige Konfidenzintervall liegt zwischen 2,86 und 7,97.

Betrachtet man die untersuchten Gegenstands-Gruppen einzeln, ergibt sich eine Abhängigkeit für den Nachweis von PCV2-DNA in den ungereinigten Abteilen für die Buchtenwände und die Beschäftigungsmaterialien. Die absoluten Häufigkeiten des Nachweises aus der ersten (vor) und der zweiten Probennahme (nach) wurden anhand einer Kreuztabelle gegeneinander verglichen (Tabelle 20). Die Odds-Ratio ergab, dass die Chance die Virus-DNA vor der Reinigung an den Buchtenwänden nachzuweisen 26-mal höher ist (Tabelle 20). Das 95%ige Konfidenzintervall liegt zwischen 6,53 und 103,50. Bei den Beschäftigungsmaterialien ergab sich durch die statistische Auswertung eine fast 9-mal höhere Chance PCV2-DNA vor der Reinigung nachzuweisen (Tabelle 20). Tabelle 20 zeigt die statistische Auswertung des PCV2-Nachweises in den Wischproben der ungereinigten Abteilen. Es wurden Kreuztabellen angefertigt, ein Chi-Quadrat-Test nach Pearson durchgeführt und die Odds-Ratio (OR) berechnet.

Tabelle 20: Statistischer Vergleich der absoluten Häufigkeiten des PCV2-Nachweises der Wischproben aus den ungereinigten Mastabteilen (vor) und der Wischproben aus den gereinigten und ggf. desinfizierten Mastabteilen (nach). Aufgeführt sind die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Test nach Pearson und der Risikoschätzung (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien; OR = Odds-Ratio)

| | Anteile positiver Proben | | p-Wert | OR | Konfidenzintervall | |
|-----------------------|--------------------------|-------|-------------------|--------------|--------------------|---------------|
| | vor | nach | | | unteres | oberes |
| Futtertröge | 50,0% | 30,0% | 0,11 | 2,33 | 0,81 | 6,73 |
| Buchtenwände | 80,0% | 13,3% | < 0,001 | 26,00 | 6,53 | 103,50 |
| Nippeltränken | 50,0% | 26,7% | 0,06 | 2,75 | 0,93 | 8,10 |
| Beschäft.-mat. | 63,3% | 16,7% | < 0,001 | 8,64 | 2,57 | 29,10 |
| Stiefel | 80,0% | 20,0% | 0,33 | 2,67 | 0,36 | 19,71 |
| Treibbretter | 50,0% | 30,0% | 0,36 | 2,33 | 0,37 | 14,61 |

40,0% (4/10) der Betriebe nahmen ausschließlich eine Reinigung ihrer Abteile vor. Somit stammen insgesamt 56 Proben der zweiten Probennahme aus Abteilen, die nur gereinigt wurden. Mit der Berechnung einer binär logistischen Regression für die kategoriale, unabhängige Variable „Reinigung“ konnte eine signifikant sinkende Chance ermittelt werden, ein positives Ergebnis in den Proben (n = 56) aus den gereinigten Abteilen zu erhalten. Referenzkategorie ist die Variable „ungereinigt“. Die Chance (Odds-Ratio) PCV2-DNA in den Betrieben nachzuweisen, deren Abteile ausschließlich gereinigt wurden, ist 5,85-mal niedriger als in den ungereinigten Abteilen (Konfidenzintervall zwischen 0,08 und 0,35). Dieser Zusammenhang ist signifikant ($p < 0,001$).

2.5. Korrelation zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA und der Desinfektion der Mastabteile

Eine der Reinigung angeschlossene Desinfektion führten 6/10 (60,0%) der Betriebe durch. Die Desinfektionsmittel wurden in flüssiger oder schaumiger Konsistenz verwendet und trockneten auf den Flächen ein. Genauere Angaben können der Tabelle 8 (Kapitel IV.1.5.) entnommen werden. Die 30 bzw. zehn Proben aus der zweiten Beprobung teilen sich

demnach wie folgt auf: je 18 Proben der Futtertröge, Buchtenwände, Nippeltränken und Beschäftigungsmaterialien und je sechs Proben der Stiefel und Treibbretter stammen aus gereinigten und desinfizierten Abteilen (R + D). Demnach stammen insgesamt 84 Proben der zweiten Probennahme aus diesen Abteilen.

Die Proben aus den R + D Abteilen wurden mit den Proben aus Betrieben, die nur eine Reinigung durchführten, statistisch verglichen. Für keinen der sechs untersuchten Gegenstände ergab sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Nachweises von PCV2-DNA. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in Tabelle 21 aufgeführt. Es wurden Kreuztabellen, der Chi-Quadrat-Test nach Pearson und eine Risikoschätzung durchgeführt.

Tabelle 21: Statistischer Vergleich der absoluten Häufigkeiten des PCV2-Nachweises der Proben aus den gereinigten Mastabteilen (R) (n = 56) und der Proben aus den gereinigten und desinfizierten Mastabteilen (R + D) (n = 84). Aufgeführt sind die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Test nach Pearson und der Risikoschätzung (Beschäftf.-mat. = Beschäftigungsmaterialien; OR = Odds-Ratio)

| | Anteile positiver Proben | | p-Wert | OR | Konfidenzintervall | |
|------------------------|--------------------------|-------|--------|------|--------------------|--------|
| | R | R + D | | | unteres | oberes |
| Futtertröge | 25,0% | 33,3% | 0,63 | 1,50 | 0,29 | 7,68 |
| Buchtenwände | 16,7% | 11,1% | 0,67 | 0,63 | 0,08 | 5,17 |
| Nippeltränken | 16,7% | 33,3% | 0,31 | 2,50 | 0,41 | 15,23 |
| Beschäftf.-mat. | 8,3% | 22,2% | 0,32 | 3,14 | 0,31 | 32,28 |
| Stiefel | 75,0% | 50,0% | 0,43 | 0,33 | 0,02 | 5,33 |
| Treibbretter | 25,0% | 33,3% | 0,78 | 1,50 | 0,89 | 25,40 |

Durch die Berechnung der binär logistischen Regression für die kategoriale, unabhängige Variable „R + D“ konnte eine signifikant sinkende Chance für den PCV2-Nachweis in den Proben (n = 84) aus den gereinigten und desinfizierten Abteilen ermittelt werden. Die Referenzkategorie ist die Variable „ungereinigt“. Die Chance (Odds-Ratio) PCV2-DNA in den Betrieben nachzuweisen, deren Abteile gereinigt und anschließend desinfiziert wurden, ist 4,17-mal niedriger als in den

ungereinigten Abteilen (Konfidenzintervall zwischen 0,01 und 0,43). Dieser Zusammenhang ist signifikant ($p < 0,001$).

Bei den Ergebnissen muss berücksichtigt werden, dass die alleinige Desinfektion der Abteile nicht vergleichend mit der Reinigung dargestellt werden kann, da der Desinfektion immer auch eine Reinigung der Abteile vorangestellt war.

2.6. Auswertung auf Ebene der untersuchten Gegenstände

Im Folgenden wird genauer auf die Ergebnisse innerhalb der sechs untersuchten Gegenstands-Arten und auf deren statistische Auswertung eingegangen.

2.6.1. Futtertröge

PCV2-DNA konnte aus 15 (50,0%) der 30 Futtertrog-Poolproben aus den nicht gereinigten Abteilen detektiert werden. In neun der zehn PCV2-positiven Betriebe war mindestens ein Futtertrog aus der ersten Probennahme positiv. In Betrieb 10 war in keiner der drei Poolproben PCV2-DNA nachweisbar.

Die Anzahl positiver Proben aus der zweiten Probennahme war numerisch geringer, aber es bestand kein signifikanter Zusammenhang zu der Durchführung einer Reinigung und ggf. Desinfektion ($p > 0,05$) (Tabelle 20). Es konnte in 9/30 (30,0%) Poolproben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Sechs der neun positiven Wischproben waren bereits in der ersten Beprobung positiv (Tabelle 18). Diese Proben wiesen im Vergleich zur ersten Untersuchung einen niedrigeren Ct-Wert auf (Abbildung 4). In den Poolproben der anderen drei positiven Futtertröge konnten zuvor keine PCV2-Genomfragmente nachgewiesen werden (Tabelle 18). So hatten die Betriebe 1, 2 und 10 je einen positiven Futtertrog mehr. In den Betrieben 6, 7 und 9 wurde in den Proben aus den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen keine PCV2-DNA mehr nachgewiesen. Sechs der neun positiven Proben stammten aus Betrieben, die zusätzlich eine Desinfektion der gereinigten Abteile durchführten. Es wurde kein statistischer Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA an Futtertrögen und der Durchführung einer Desinfektion ermittelt.

Mit dem Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben konnte für 15/15 (100%) positiven Proben aus der ersten Untersuchung eine Ct-Wert Erhöhung in den Proben der zweiten Probennahme festgestellt werden (Abbildung 4). Drei Futtertröge hatten einen niedrigeren Ct-Wert. Diese Futtertröge waren in der ersten Beprobung negativ, daher wurde ihnen ein Ct-Wert ≥ 40 zugeteilt (Abbildung 4). So konnte mit dem statistischen Testverfahren ausgehend von einem Ct-Wert von 40,00 ein Ct-Wert-Vergleich vorgenommen werden. Die Ct-Wert-Veränderungen der Futtertröge durch die Reinigung und ggf. Desinfektion der Abteile waren signifikant ($p = 0,01$). Die Verteilung der Ct-Werte aller Pools aus beiden Beprobungen sind in Abbildung 4 dargestellt.

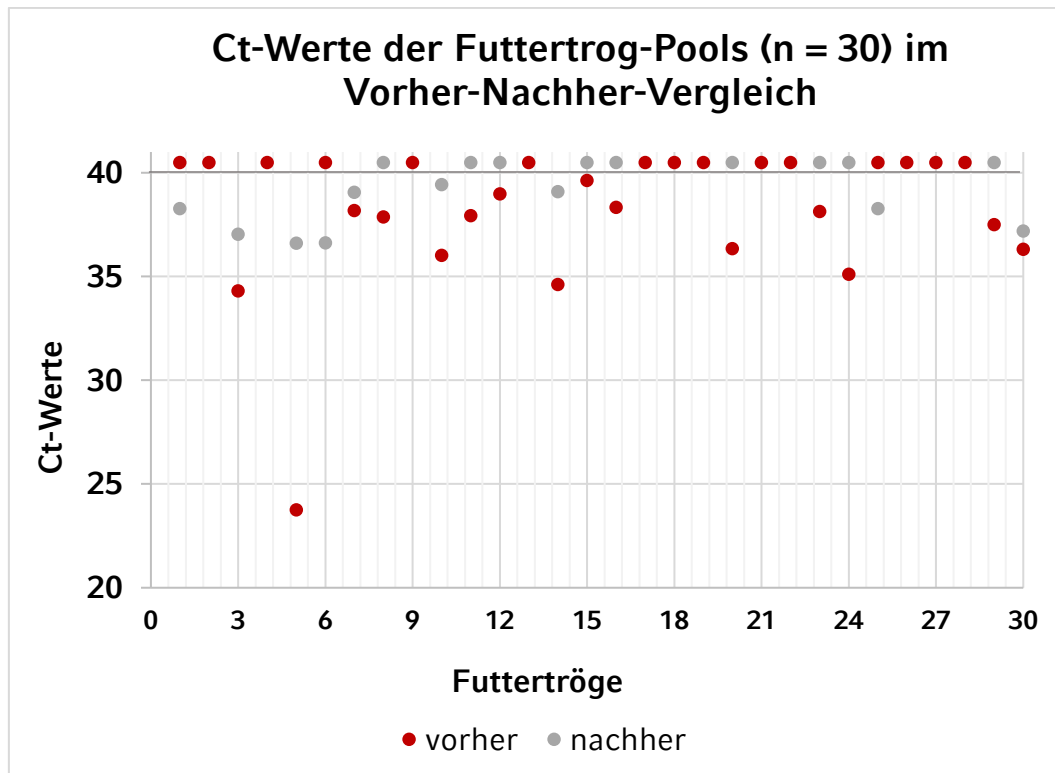


Abbildung 4: Verteilung der Ct-Werte der Futtertröge (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Futtertrog-Poolprobe dar

Der niedrigste Ct-Wert (23,75) der ersten Beprobung konnte bei dem Futtertrug aus Bucht 2 des zweiten Betriebs nachgewiesen werden. Auch in der Poolprobe der zweiten Beprobung hatte die Probe dieses Futtertrogs den niedrigsten Ct-Wert. Die minimalen und maximalen, sowie mittleren

Ct-Werte, Mittelwerte und die Standardabweichung der Poolproben der Futtertröge aus beiden Beprobungen sind in Tabelle 22 dargestellt.

Tabelle 22: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Futtertrog-Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)

| | vorher | | nachher | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| | Minimum | Maximum | Minimum | Maximum |
| Ct-Wert | 23,75 | 39,63 | 36,61 | 39,43 |
| MW | 36,21 | | 37,96 | |
| SD | 3,79 | | 1,11 | |

2.6.2. Buchtenwände

In 24/30 (80,0%) Poolproben der Buchtenwände aus den ungereinigten Abteilen konnte PCV2-DNA nachgewiesen werden. In jedem der zehn Betriebe war mindestens eine Poolprobe der drei untersuchten Buchten positiv. Die Reinigung hatte einen signifikanten Einfluss auf den Nachweis der PCV2-DNA-Menge ($p < 0,001$) (Tabelle 20). Die Chance in den nicht gereinigten Abteilen PCV2-DNA an den Buchtenwänden nachzuweisen war 26-fach erhöht. Das 95%-Konfidenzintervall liegt zwischen 6,53 und 103,50 (Tabelle 20).

Nach der Reinigung und ggf. Desinfektion konnte in 4/30 (13,3%) Poolproben der Buchtenwände PCV2-DNA nachgewiesen werden. In drei dieser vier Buchtenwand-Pools wurde bereits in der ersten Probennahme Virus-DNA nachgewiesen (Tabelle 18). Bei allen drei Buchten kam es zu einer Erhöhung des Ct-Wertes nach der Reinigung und ggf. Desinfektion (Abbildung 5). Der vierte positive Pool (Bucht 1 in Betrieb 1) war in der ersten Beprobung negativ. Die vier Buchtenwand-Pools stammten aus den Betrieben 1, 9, 10 und 11. In den Betrieben 2, 3, 4, 5, 6, und 7 waren alle Buchtenwände nach der Reinigung und ggf. Desinfektion negativ (Tabelle 18). Zwei der vier positiven Proben stammten aus Betrieben, die zusätzlich eine Desinfektion der Abteile durchführten. Die Desinfektion hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Menge an nachgewiesener PCV2-DNA.

Bei allen 24 positiven Poolproben aus der ersten Beprobung zeigte sich im Vergleich (Wilcoxon-Test) eine Erhöhung des Ct-Wertes in der zweiten Beprobung (Abbildung 5). Bei einer Buchtenwand lag die PCV2-DNA-Menge vor der Reinigung in dem Bereich, der als negativ gewertet wurde, in der Probe der zweiten Untersuchung lag der Ct-Wert unter 40,00 und war somit positiv. Diese Veränderungen der Ct-Werte bedingt durch die Reinigung und ggf. Desinfektion waren signifikant ($p \leq 0,001$). Im Folgenden ist die Verteilung der Ct-Werte aller Poolproben aus der ersten und der zweiten Beprobung dargestellt (Abbildung 5).

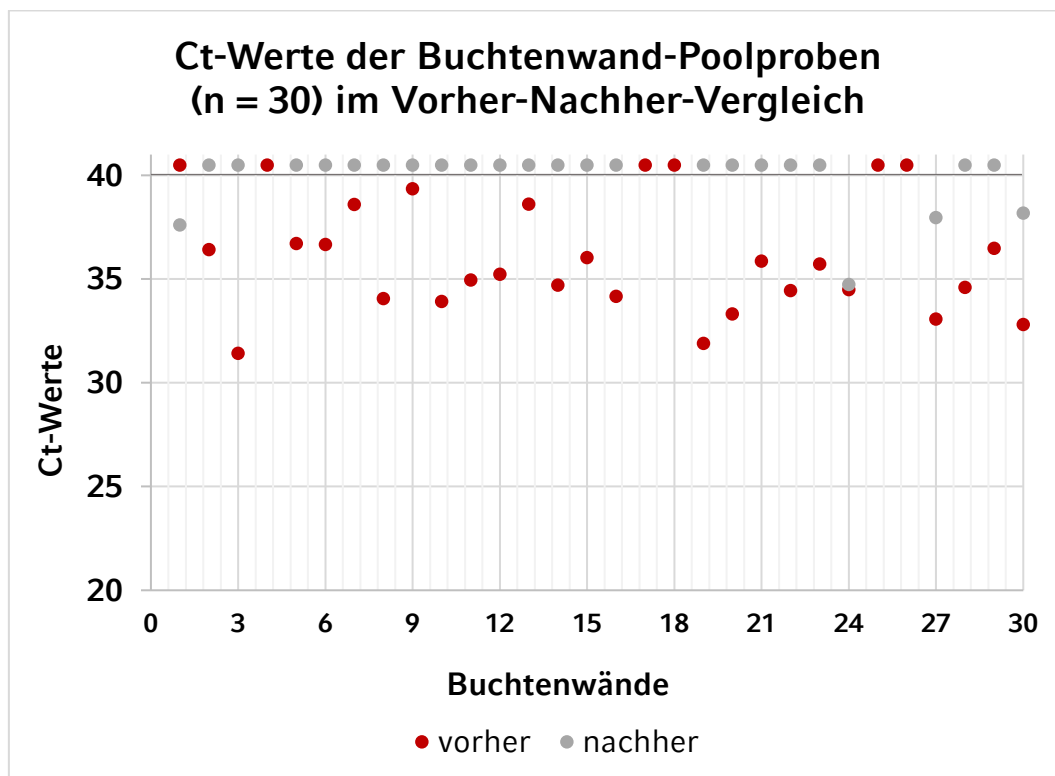


Abbildung 5: Verteilung der Ct-Werte der Buchtenwände (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Buchtenwand-Poolprobe dar

Der niedrigste Ct-Wert der ersten Beprobung konnte in Betrieb 1 in der Bucht 3 detektiert werden. In der Poolprobe dieser Bucht konnte in der zweiten Beprobung keine PCV2-DNA nachgewiesen werden. Der niedrigste Ct-Wert aus der zweiten Beprobung wurde in der Bucht 3 des 9. Betriebs nachgewiesen, diese Bucht war zuvor ebenfalls positiv. Tabelle 23 zeigt die minimalen und maximalen, sowie mittleren Ct-Werte,

Mittelwerte und die Standardabweichung der Poolproben der Buchtenwände aus beiden Beprobungen.

Tabelle 23: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Buchtenwand-Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)

| | vorher | | nachher | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| | Minimum | Maximum | Minimum | Maximum |
| Ct-Wert | 31,43 | 39,36 | 34,75 | 38,18 |
| MW | 35,15 | | 37,13 | |
| SD | 2,02 | | 1,60 | |

2.6.3. Nippeltränken

In den ungereinigten Abteilen konnte in 15/30 (50,0%) Wischproben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Betrieb 6 hatte keine einzige positive Probe. In den anderen neun Betrieben wurde in mindestens einer der Wischproben PCV2-DNA nachweisen.

Durch die Reinigung und ggf. Desinfektion wurde die Anzahl positiver Proben aus der zweiten Probennahme geringer. Dieser Zusammenhang war jedoch nicht signifikant ($p > 0,05$) (Tabelle 20). Es konnte in 8/30 (26,7%) Wischproben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Fünf der acht positiven Tränken konnte bereits in der ersten Beprobung ein positives Ergebnis zugeordnet werden. Drei zuvor negativ getestete Tränken wurden in der zweiten Beprobung positiv, zwei davon befanden sich in Betrieb 1 (Tabelle 18). In den Betrieben 2, 5, 6 und 9 konnte in keiner der drei beprobten Buchten Virus-DNA in den Wischproben der Nippeltränken nachgewiesen werden. Sechs der acht positiv getesteten Wischproben stammten aus Abteilen, die zusätzlich desinfiziert wurden. Die Durchführung einer Desinfektion hatte keinen signifikanten Einfluss auf die nachgewiesene PCV2-DNA Menge ($p > 0,05$).

Für 14 der 15 positiven Proben der ersten Probennahme konnte mit Hilfe des Wilcoxon-Tests für verbundene Stichproben eine Erhöhung des Ct-Wertes in der zweiten Beprobung ermittelt werden (Abbildung 6). Die Wischproben von vier Nippeltränken hingegen wiesen in der zweiten Beprobung einen niedrigeren Ct-Wert auf. Dabei waren die Wischproben

von drei der vier Tränken zuvor negativ (Tabelle 18), somit bezieht sich die Ct-Wert-Senkung auf einen Cut-off-Wert von 40,00. Die ermittelten Ct-Wert-Veränderungen zum zweiten Probennahmen-Zeitpunkt waren in diesem Testverfahren nicht signifikant ($p = 0,039$). In Abbildung 6 sind die Ct-Werte aller Wischproben der Nippeltränken aus der ersten und der zweiten Beprobung dargestellt.

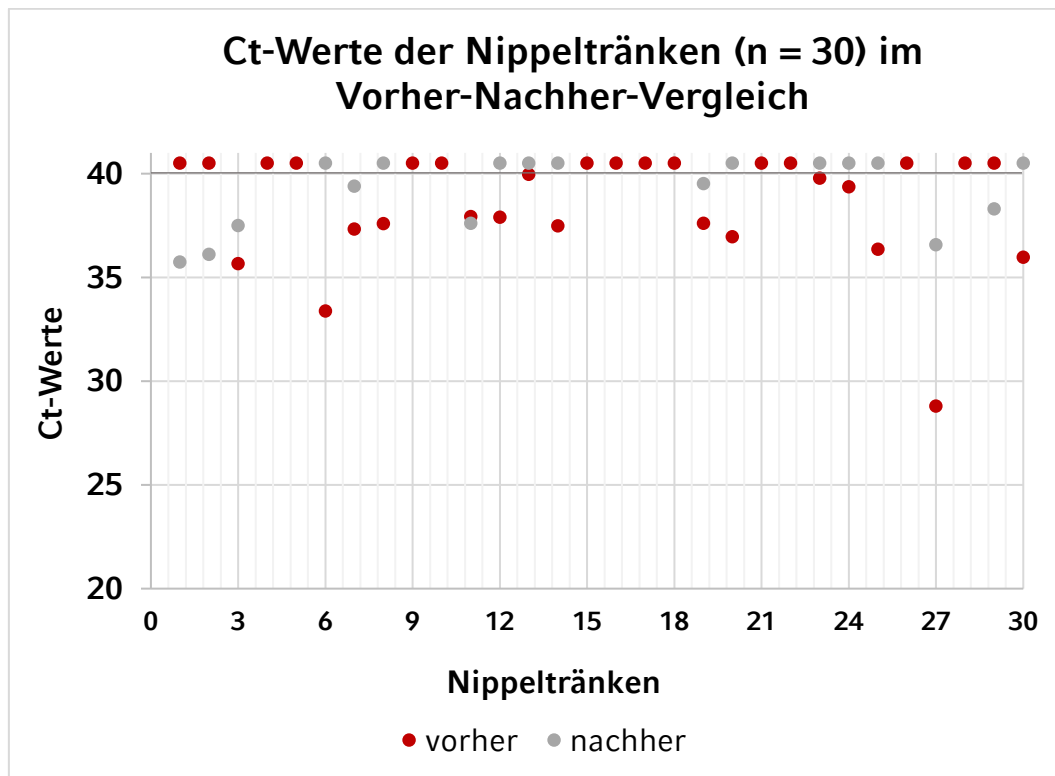


Abbildung 6: Verteilung der Ct-Werte der Nippeltränken (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Wischprobe dar

Der niedrigste Ct-Wert der ersten Beprobung konnte an der Nippeltränke aus Bucht 3 des Betriebs 10 nachgewiesen werden, er betrug 28,80. Dieselbe Tränke hatte in der zweiten Beprobung einen Ct-Wert von 36,57. In der zweiten Probennahme konnte an der Tränke aus der ersten Bucht des Betriebs 1 der niedrigste Ct-Wert ermittelt werden. An dieser Tränke wurde zuvor keine PCV2-DNA nachgewiesen werden. Die minimalen und maximalen, sowie mittleren Ct-Werte der beiden Beprobungen sind zusammen mit den Mittelwerten und der Standardabweichung im Folgenden aufgeführt (Tabelle 24).

Tabelle 24: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Proben der Nippeltränken aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)

| | vorher | | nachher | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| | Minimum | Maximum | Minimum | Maximum |
| Ct-Wert | 28,80 | 39,97 | 35,73 | 39,51 |
| MW | 36,81 | | 37,59 | |
| SD | 2,78 | | 1,42 | |

2.6.4. Beschäftigungsmaterialien

In jedem der zehn PCV2-positiven Betriebe konnte in den Wischproben der ersten Beprobung an mindestens einem Beschäftigungsmaterial PCV2-DNA detektiert werden. Insgesamt wurde in 19/30 (63,3%) Wischproben Virus-DNA nachgewiesen. Die Reinigung der Abteile hatte einen signifikanten Einfluss auf die nachgewiesene Virusmenge an den Beschäftigungsmaterialien ($p < 0,001$) (Tabelle 20). Die Chance (Odds-Ratio) das Virus an den Beschäftigungsmaterialien in den ungereinigten Abteilen nachzuweisen ist um ein 8,64-faches erhöht (Tabelle 20). Das Konfidenzintervall (95%) lag dabei zwischen den Werten 2,57 und 29,10.

Nach der Reinigung und ggf. Desinfektion konnte für fünf (16,7%) der 30 beprobten Beschäftigungsmaterialien ein positives Ergebnis ermittelt werden. Die Wischproben dieser fünf Beschäftigungsmaterialien aus der ersten Probennahme enthielten ebenfalls PCV2-DNA. In den Betrieben 4, 5, 6, 7, 9 und 10 konnte in keiner Wischprobe der zweiten Probennahme Virus-DNA nachgewiesen werden. Vier der positiven Proben stammten aus desinfizierten Abteilen. Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer zusätzlichen Reinigung der Mastabteile und dem Nachweis von PCV2-DNA ermittelt.

Mittels statistischer Auswertung für verbundene Stichproben (Wilcoxon-Test) konnte für 17 der 19 positiven Beschäftigungsmaterialien eine Erhöhung des Ct-Wertes in der zweiten Wischprobe ermittelt werden (Abbildung 7). In den anderen zwei Wischproben wurde ein niedrigerer Ct-Wert ermittelt. Die Veränderungen der

Beschäftigungsmaterial-Ct-Werte nach der Reinigung und ggf. Desinfektion waren signifikant ($p = 0,001$). Abbildung 7 zeigt die Verteilung der Ct-Werte aller Wischproben.

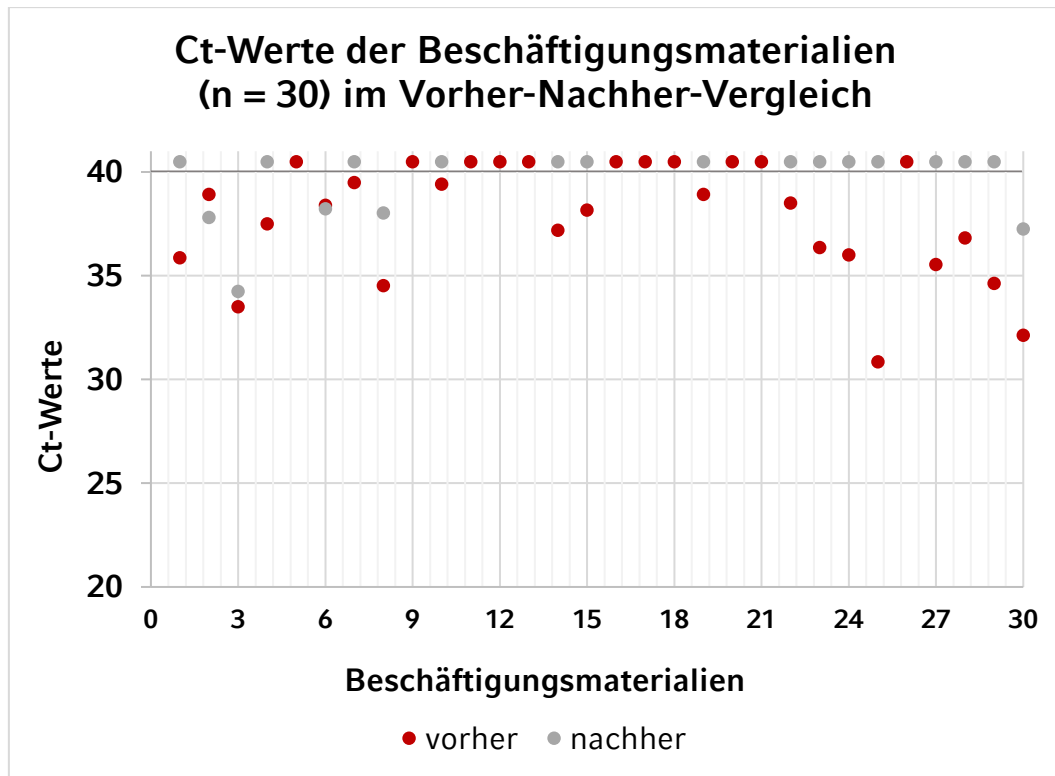


Abbildung 7: Verteilung der Ct-Werte der Beschäftigungsmaterialien (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen

In der ersten Beprobung konnte in der Wischprobe des Beschäftigungsmaterials aus Bucht 1 des 10. Betriebs der niedrigste Ct-Wert (30,85) ermittelt werden. In der zweiten Wischprobe dieses Beschäftigungsmaterials konnte keine PCV2-DNA mehr nachgewiesen werden. Im Folgenden sind die minimalen und maximalen Ct-Werte, sowie die Mittelwerte und die Standardabweichung der Proben der Beschäftigungsmaterialien aus beiden Beprobungen dargestellt (Tabelle 25).

Tabelle 25: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Wischproben der Beschäftigungsmaterialien aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)

| | vorher | | nachher | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| | Minimum | Maximum | Minimum | Maximum |
| Ct-Wert | 30,85 | 39,49 | 34,25 | 38,23 |
| MW | 36,46 | | 37,12 | |
| SD | 2,47 | | 1,64 | |

2.6.5. Stiefel

Es wurden Wischproben von zehn Stiefeln ausgewertet. In der ersten Beprobung konnte in 8/10 (80,0%) Wischproben PCV2-DNA nachgewiesen werden. In den Betrieben 6 und 10 wurde keine Virus-DNA an den untersuchten Stiefeln detektiert. Es lag kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PCV2 in den Wischproben der ungereinigten Abteilen vor ($p > 0,05$) (Tabelle 20).

In der zweiten Beprobung konnte in 6/10 (60,0%) Wischproben PCV2-DNA nachgewiesen werden (Tabelle 19). Von den sechs positiven Wischproben stammten drei Proben aus Betrieben, die nach der Reinigung eine Desinfektion der Abteile vornahmen. Die Desinfektion hatte keinen signifikanten Einfluss auf den Nachweis von PCV2.

In einem direkten Vergleich mittels Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben konnte für alle acht positiven Proben aus der ersten Beprobung eine Ct-Wert Erhöhung in der zweiten Wischprobe ermittelt werden (Abbildung 8). In der zuvor negativen Wischprobe des Stiefels aus Betrieb 10 wurde in der zweiten Probennahme PCV2-DNA nachgewiesen und somit ein niedrigerer Ct-Wert ermittelt. Die ermittelten Ct-Wert-Veränderungen zum zweiten Beprobungszeitpunkt waren nicht signifikant ($p = 0,04$). Abbildung 8 zeigt die Verteilung der Ct-Werte aller positiven Wischproben der Stiefel aus der ersten und der zweiten Beprobung. Ein Punkt stellt eine Probe dar.

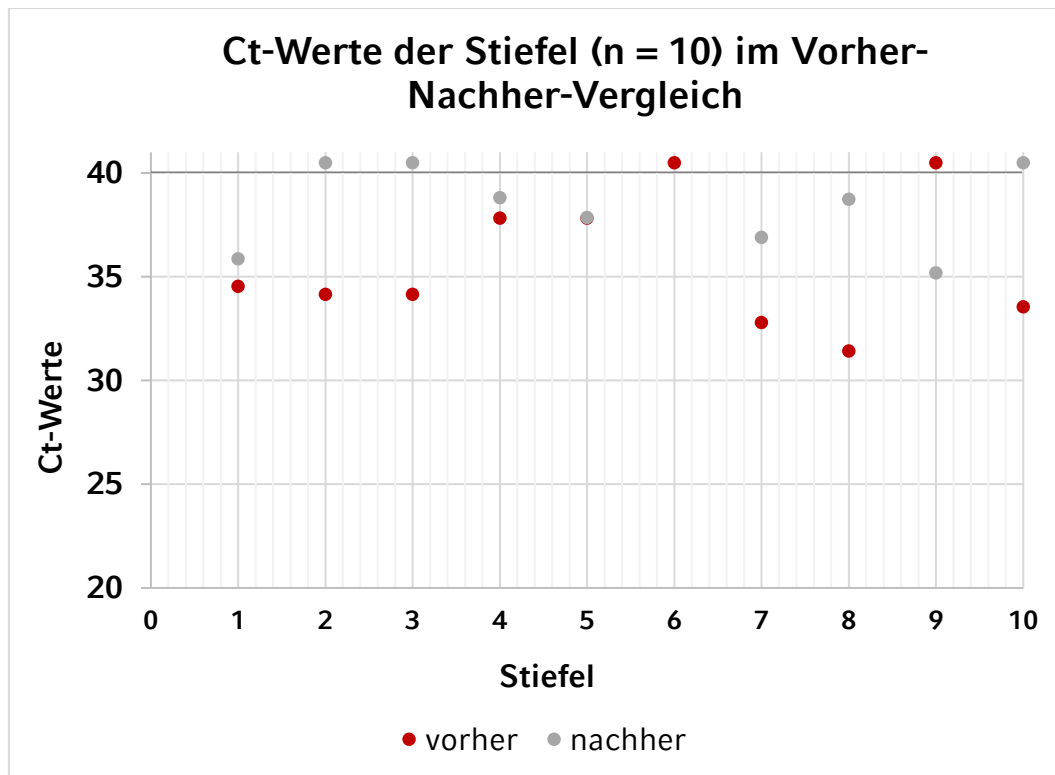


Abbildung 8: Verteilung der Ct-Werte der Stiefel (n = 10) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Probe dar. Der Ct-Wert der zweiten Probe (nachher = grauer Punkt) des Treibbretts 5 unterscheidet sich um 0,04 zur ersten Probe (vorher = roter Punkt) und ist daher in der Grafik nicht sichtbar

Aus den zehn Proben der ersten Probennahme wurde in der Wischprobe des Stiefels aus Betrieb 9 die höchste Menge PCV2-DNA (niedrigster Ct-Wert: 31,42) nachgewiesen. In der Wischprobe aus der zweiten Beprobung wurde ein Ct-Wert von 38,74 für diesen Stiefel ermittelt. Tabelle 26 zeigt die minimalen und maximalen Ct-Werte, sowie die Mittelwerte und die Standardabweichung der Wischproben aller zehn Stiefel.

Tabelle 26: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Wischproben der Stiefel aus der ersten Beprobung (vorher) und der zweiten Beprobung (nachher)

| | vorher | | nachher | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| | Minimum | Maximum | Minimum | Maximum |
| Ct-Wert | 31,42 | 37,82 | 35,19 | 38,82 |
| MW | 34,53 | | 37,23 | |
| SD | 2,25 | | 1,51 | |

2.6.6. Treibbretter

In jedem der zehn PCV2-positiven Betriebe wurde ein Treibbrett mittels Wischprobe beprobt. In fünf der zehn (50,0%) Wischproben der ersten Beprobung konnte PCV2-DNA nachgewiesen werden. Die Proben der Treibbretter der Betriebe 3, 4, 6, 9 und 11 waren negativ. Die statistische Auswertung konnte keinen signifikanten Zusammenhang für den Nachweis von PCV2-DNA an den Treibbrettern in den ungereinigten Abteilen feststellen ($p > 0,05$) (Tabelle 20).

Die Wischproben von drei der zehn untersuchten Treibbretter aus den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen waren positiv. In dem 3. Betrieb konnte in der Wischprobe der zweiten Beprobung PCV2-DNA an dem Treibbrett nachgewiesen werden, die erste Wischprobe war negativ. Zwei der drei positiven Treibretter stammten aus Betrieben, die ihre Abteile nach der Reinigung zusätzlich desinfizierten. Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PCV2-DNA auf Treibbrettern von Betrieben die eine Desinfektion der Mastabteile durchführten ermittelt.

Der Test für verbundene Stichproben (Wilcoxon-Test) ermittelte für vier der fünf positiven Treibbretter aus den ungereinigten Abteilen eine Erhöhung des Ct-Wertes in der zweiten Wischprobe (Abbildung 9). Die Wischproben von zwei Treibbrettern der zweiten Beprobung wiesen einen niedrigeren Ct-Wert auf. Die Ct-Wert Veränderungen aus diesem Testverfahren waren nicht signifikant ($p = 0,17$). Im Folgenden sind die Ct-Werte der Treibbretter aus beiden Beprobungen dargestellt (Abbildung 9).

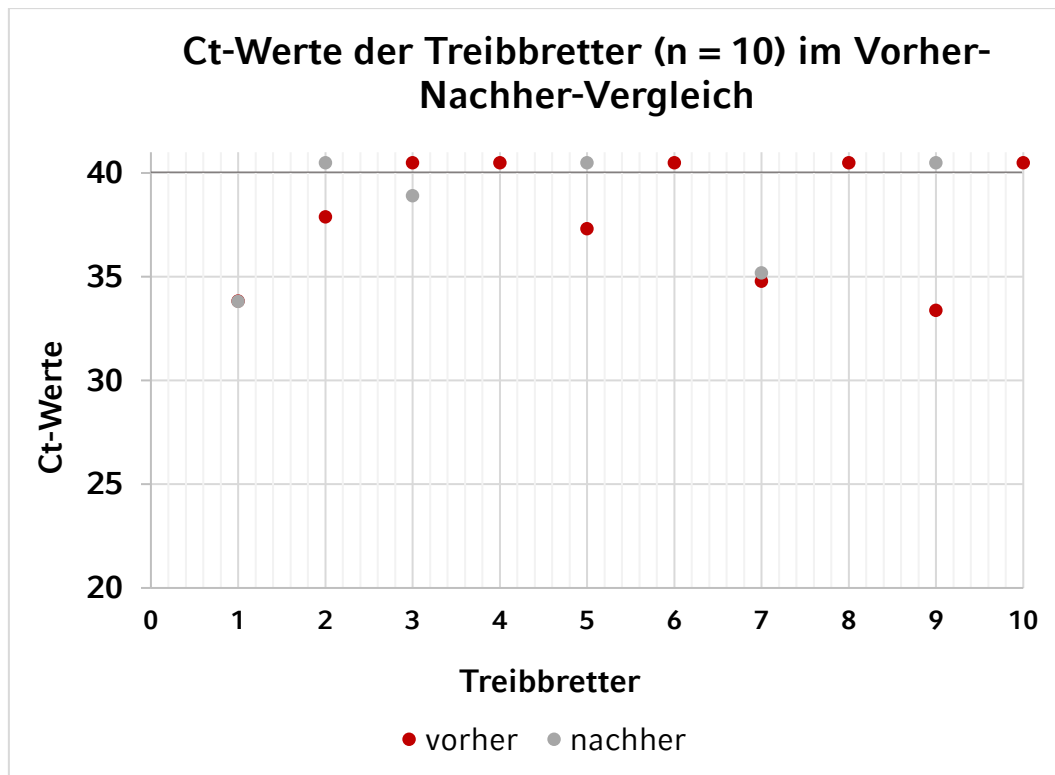


Abbildung 9: Verteilung der Ct-Werte der Treibbretter (n = 10) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)

Der niedrigste Ct-Wert wurde für das Treibbrett des Betriebs 10 ermittelt. In der zweiten Wischprobe dieses Bretts konnte keine PCV2-DNA nachgewiesen werden. Tabelle 27 führt die minimalen und maximalen Ct-Werte der Wischproben beider Beprobungen, sowie deren Mittelwerte und die Standardabweichungen auf.

Tabelle 27: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Wischproben der Treibbretter aus der ersten Beprobung (vorher) und der zweiten Beprobung (nachher).

| | vorher | | nachher | |
|----------------|---------|---------|---------|---------|
| | Minimum | Maximum | Minimum | Maximum |
| Ct-Wert | 33,38 | 37,88 | 33,81 | 38,90 |
| MW | 35,44 | | 35,96 | |
| SD | 2,05 | | 2,63 | |

V. DISKUSSION

1. Eignung von Wischproben für den Nachweis von PCV2-DNA aus der Umgebung

In der vorliegenden Untersuchung wurde anhand von Wischproben der PCV2-DNA-Gehalt am Ende der Mast und vor der Neubelegung der Mastställe ermittelt. Um dabei eine flächenhafte Beprobung der Gegenstände vorzunehmen, wurden anstelle normaler Abstrich-Tupfer Tücher verwendet, die aufgrund einer wesentlich größeren Oberfläche potentiell mehr Virus-Material aufnehmen können. Der Nachweis anderer porziner Pathogene mittels flächigen Wischproben wurde bereits beschrieben. Im Jahr 2009 wurden trockene Swiffer®-Tücher in einer Untersuchung über den Nachweis von Salmonellen in amerikanischen Schweinebeständen verwendet (ZEWDE et al., 2009). KENNEY und POLSON (2011) untersuchten die Eignung von diesen Tüchern für eine Beprobung von Buchtenböden, Buchtenwänden und Futtertrögen vergleichend mit der Verwendung von Abstrich-Tupfern für den Nachweis von PRRSV. Ihre Ergebnisse bestärken die Auswahl des hier verwendeten flächigen Beprobungsmaterials, da sie herausfanden, dass die großflächigen Tücher sowohl geeigneter für eine Untersuchung der Umgebung sind als auch effizienter PRRSV-RNA aufnehmen können (KENNEY und POLSON, 2011).

In der vorliegenden Studie wurden wie bei KENNEY und POLSON (2011) und SCHNEIDER et al. (2011), die mittels Swiffer®-Tüchern PRRSV-RNA in Tiertransportern detektierten, feuchte, großflächige Tücher für die Probennahme verwendet. In den beiden Publikationen wurde jedoch eine deutlich größere Fläche (100 x 100 cm, entspricht 10.000 cm²) in den Abteilen und Transportern beprobt. In der hier vorliegenden Studie wurden die Futtertröge und Buchtenwände auf einer DIN A4 großen Fläche (623,7 cm²) untersucht. Dieser untersuchte Bereich ist zwar kleiner als der, der genannten Untersuchungen, er wurde jedoch in jeder Bucht an drei verschiedenen Stellen beprobt. Die Wahrscheinlichkeit PCV2-haltiges, organisches Material, wie Kot, Urin und Speichel, von

verschiedenen Tieren zu gewinnen wird als deutlich höher erachtet, wenn mehrere Stellen innerhalb einer Bucht, die einen gewissen räumlichen Abstand zu einander haben, beprobt werden. So sollte in dieser Untersuchung gewährleistet werden, eine aussagekräftigere Strichprobe der Kontamination einer Bucht zu erhalten.

Für die Untersuchung anhand von Wischproben wurden hier handelsübliche Mullkompressen aus Gaze verwendet. Diese erwiesen sich als sehr praktikabel und kostengünstig. Die Verwendung von Mullkompressen zur Gewinnung von Wischproben aus Schweineställen ist ein neuartiges, bisher noch nicht beschriebenes Vorgehen für den Nachweis von porcinen Circovirus Typ 2. Für den Nachweis von anderen porcinen Krankheitserregern hat sich die Verwendung von befeuchteten, flächigen Wischproben aus Gaze bereits bewährt. So verwendeten GOTTER et al. (2012) ein sehr ähnliches Studiendesign und untersuchten mittels 10 x 30 cm großen Gaze-Stücken, die zuvor in PBS-Lösung getränkt wurden, die Salmonellen-Kontamination in deutschen Schweinebeständen. Auch GARRIDO-MANTILLA et al. (2019) untersuchten anhand von quadratischen, feuchten Gaze-Stücken die Kontamination der Umgebung mit dem Influenza-A-Virus und erachten die Methode als ein geeignetes Überwachungsprogramm für IAV.

In der vorliegenden Studie wurde sich bewusst dafür entschieden, feuchte Wischproben für die Probennahme zu verwenden. PCV2 wird hauptsächlich mit dem Kot, Speichel, Nasensekret und Urin infizierter Schweine ausgeschieden (SEGALÉS et al., 2005a; PATTERSON et al., 2011a; PRICKETT et al., 2011). Sofern nicht kurz vor der Probennahme ausgeschieden, haften diese Se- und Exkrete an der Buchteneinrichtung und trocknen dort an. Durch die Verwendung feuchter, flächiger Wischproben wird die Wahrscheinlichkeit ausreichend organisches Material aufzunehmen als bedeutend größer erachtet, da sich durch die wischenden Bewegungen mit den feuchten Kompressen auf den Oberflächen angetrocknete Ausscheidungen lösen und so von der Mullkompressen aufgenommen werden können. Auch andere Autoren verwendeten feuchte Wischproben für einen Erregernachweis in ihren Untersuchungen (KENNEY und POLSON, 2011; MOORKAMP et al., 2018;

GARRIDO-MANTILLA et al., 2019).

Jede Mullkompressen wurde vor der Probennahme in eine zuvor definierte Menge PBS-Lösung getränkt. Auch die Verwendung von dieser Lösung wurde in zahlreichen Publikationen beschrieben (GOTTER et al., 2012; DÍAZ CAO et al., 2018; MOORKAMP et al., 2018). Die Gaze-Kompressen sind besonders saugfähig und in der Lage die Feuchtigkeit wieder abzugeben, sodass durch Zentrifugation der Wischproben auf einem standardisierten Weg Probenflüssigkeit gewonnen werden konnte, die sich für die weitere, molekularbiologische Untersuchung mittels qPCR gut eignete.

Die zahlreichen internationalen und nationalen Publikationen der vergangenen Jahre zeigen, dass sich Wischproben aus der Umgebung von Schweinen in der Diagnostik porziner Krankheitserreger, sei es viraler oder bakterieller Genese, etabliert haben und bestätigen die eigenen Beobachtungen: die Beprobung ist einfach durchzuführen und kostengünstig, sodass die Methodik auch auf Ebene des gesamten Bestandes durchgeführt werden kann.

Neben den Publikationen über den Nachweis anderer porziner Pathogene, liegen Untersuchungen vor, die sich ebenfalls mit dem Nachweis von PCV2 in der Umgebung von Schweinen beschäftigten. Diese Untersuchungen verwendeten ein ähnliches, jedoch nicht gleichwertiges Studiendesign. In einer Untersuchung aus dem Jahr 2011 verwendeten PATTERSON et al. (2011b) befeuchtete Abstrich-Tupfer mit einer Spitze aus Polyester und eine Schablone, um ausgewählte Stellen in PCV2-kontaminierten Modell-Transportern zu beproben. Mit der angewandten Methode konnten sie anhand einer real-time PCR sowohl nach dem Waschen als auch nach der Anwendung verschiedener Desinfektionsprotokolle PCV2-DNA in den Transportern nachweisen. Auch DVORAK et al. (2013) untersuchten in ihrer Studie unter der Verwendung von Wischproben die PCV2-Kontamination auf Betonböden und Kastenständen in Abferkelabteilen. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie verwendete das Forscherteam trockene Abstrich-Tupfer, die erst nach der Probennahme in eine PBS-Lösung verbracht wurden (DVORAK et al., 2013). Zusätzlich wurden mit trockenen, Swiffer®-ähnlichen Tüchern die Böden und Wände

der Abferkelbuchten beprobt und auch diese Tücher wurden erst anschließend in PBS-Lösung verbracht (DVORAK et al., 2013). Ähnlich gingen DÍAZ CAO et al. (2018) vor, indem sie Trockentupfer für die Beprobung der Oberflächen und der Stallkleidung aus PCV2-positiven Beständen verwendeten und diese anschließend mit PBS-Lösung befeuchteten. Außer DVORAK et al. (2013) verwendeten die genannten Forscherteams keine flächigen Wischproben, sondern ebenso wie LÓPEZ-LORENZO et al. (2019) gebräuchliche Abstrich-Tupfer aus Baumwolle oder Polyester. Vergleichend zu den genannten Studien sind demnach zwei Unterschiede im Studiendesign der vorliegenden Untersuchung zu verzeichnen: die Verwendung feuchter anstelle trockener Wischproben und der Gebrauch von flächigen Mullkompressen anstatt des Gebrauchs von Abstrich-Tupfern. Wie bereits erläutert, wird die Verwendung von flächigen, feuchten Tüchern für den Virus-Nachweis als geeigneter angesehen und mag ein substanzieller Vorteil dieser Studie im Vergleich zu den genannten sein.

Trotz der beiden aufgeführten Unterschiede zu bisherigen Publikationen, war es in der vorliegenden Studie möglich, PCV2-DNA in den gewonnenen Flüssigkeiten der Wischproben nachzuweisen. Demnach ist davon auszugehen, dass befeuchtete Mullkompressen in ihrer Größe und Beschaffenheit durch das Abwischen von Gegenständen und der Stalleinrichtung geeignet sind, um ausreichend Virus-Material aufzunehmen, sodass PCV2-Genomfragmente mit einer qPCR nachweisbar sind. Das hier verwendete Studiendesign eignet sich somit für den Nachweis von PCV2-DNA in Mastabteilen.

In Anlehnung an das Salmonellen-Monitoring und das vergleichbare Studiendesign von GOTTER et al. (2012) wäre es denkbar, die Verwendung von Umgebungsproben nicht nur auf die Detektion eines Erregers auszurichten, sondern eine Methodik zu entwickeln, bei der beispielsweise sowohl Salmonellen als auch PCV2-DNA durch ein und dieselbe Wischprobe nachgewiesen werden können. So wäre die Verwendung von Wischproben aus der Umgebung zugleich effizienter. Auch NIENHOFF et al. (2013) schienen dieser Fragestellung nachzugehen und versuchten neben der Detektion von PRRSV auch den Nachweis anderer

respiratorischer Erreger aus Wischproben der Umgebung zu erzielen. In einer Feldstudie verglichen sie Tracheobronchialtupfer von Absetzferkeln mit Swiffer®-Wischproben aus den Ställen und konnten neben PRRSV Influenza-A-Viren, *M. hyopneumoniae* und *M. hyorhinis* nachweisen, sodass sie diese Methodik als geeignet einstufen (NIENHOFF et al., 2013).

Ein weiterer Unterschied zu den oben genannten Untersuchungen besteht in der Einheit der gemessenen Virus-Menge. Während PATTERSON et al. (2011b), DVORAK et al. (2013) und LÓPEZ-LORENZO et al. (2019) in ihren Publikationen die detektierten Virus-Mengen in log₁₀ Genomkopien/ml angeben, werden in dieser Studie Cycle threshold-Werte verwendet, anhand derer nur eine semiquantitative Auswertung vorgenommen werden kann. Die mittels qPCR detektierten DNA-Mengen in dieser Untersuchung sind von der Menge an aufgenommenen organischem Material abhängig. Dabei lässt sich mit der hier verwendeten Methodik nicht eruieren, ob mit jeder Wischprobe die gleiche Menge an virushaltigem Material von den untersuchten Gegenständen aufgenommen wurde.

2. Nachweis PCV2-spezifischer Genomfragmente

Auch wenn es kein Ziel dieser Untersuchung war, muss darauf hingewiesen werden, dass durch eine Detektion der viralen DNA mittels PCR keine Aussage über die Infektiosität des Virus getroffen werden kann. Es werden Genomfragmente des porcinen Circovirus Typ 2 nachgewiesen, die keine Rückschlüsse auf ein infektiöses Virus zulassen. Auch PATTERSON et al. (2011b) halten dies in ihrer Publikation fest und können keine Aussage darüber treffen, ob die detektierten PCV2-Genomkopien in ihrer Untersuchung infektiös sind oder in einer für eine Infektion ausreichenden Menge vorhanden sind.

Die Tatsache, dass PCV2 eine hohe Tenazität (O'DEA et al., 2008) und aufgrund seiner zirkulären DNA-Struktur ein Genom mit erhöhter Stabilität besitzt (WELCH et al., 2006) machen es jedoch prinzipiell möglich, zum Zeitpunkt der hier durchgeführten Untersuchung infektiöses bzw. lebendes Virus mit den Wischproben aufgenommen zu haben. Es liegen keine publizierten Daten zur Widerstandsfähigkeit von PCV2 außerhalb

des tierischen Wirtsorganismus vor. Man geht jedoch von einer mehrwöchigen bis monatelangen Überlebensfähigkeit aus. Demnach würde von dem Virus ein potentielles Risiko der horizontalen Übertragung ausgehen. Dies hätte zur Konsequenz, dass bei einer ungenügend durchgeführten oder fehlenden Reinigung und Desinfektion ein hohes Infektionsrisiko für die nachfolgende Tiergruppe besteht.

Das PCV2-Genom wird von einem Kapsid, bestehend aus 60 Protein-Untereinheiten, geschützt (CROWTHER et al., 2003). Wenn das Kapsid in dem Maße beschädigt wird, dass das Virus die Fähigkeit verliert in Wirtszellen einzudringen, verliert es seine Infektiosität. Dennoch wäre die virale DNA weiterhin durch das Kapsid geschützt, sodass DNA-Fragmente nachgewiesen werden können. Auch zu dieser Theorie liegen bis dato keine publizierten Ergebnisse vor.

Geht man also durch die bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnisse von einer hohen Tenazität und Widerstandsfähigkeit aus, würde dies bedeuten, dass sich das Virus über die Zeit einer zwölfwöchigen Mastperiode in den Buchten anreichert, sodass am Ende der Mast, zu dem Zeitpunkt der hier durchgeführten Probennahme, PCV2 in großen Mengen, akkumuliert vorhanden sein müsste. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie können diese Theorie allerdings nicht bekräftigen. Schaut man sich Abbildung 2 an, wird deutlich, dass ein Großteil der ermittelten Ct-Werte in dem Bereich zwischen 35,0 und 39,9 liegen. Dieser Bereich wurde hier als „schwach positiv“ (Kategorie II) definiert. 86 von 121 positiven Proben liegen also sehr nahe an der Nachweisgrenze. Die Kontamination der hier untersuchten Mastabteile ist somit niedriger als erwartet. Schaut man sich die Mittelwerte der ersten Beprobung der einzelnen Betriebe an (Tabelle 8 bis Tabelle 17), wird ersichtlich, dass auch die Betriebe im Durchschnitt schwach positive Werte vorweisen. Mit der oben beschriebenen Theorie würde man eigentlich mehr Ct-Werte in der Kategorie III und IV erwarten. Weil dem aber nicht so ist, muss davon ausgegangen werden, dass in den untersuchten Abteilen wenig virale DNA vorhanden war und demnach eine geringere Kontamination als angenommen vorlag.

Wenn es sich bei der hier detektierten PCV2-DNA jedoch um einzelne Genomfragmente handelt, also freie DNA, wäre durch das Fehlen eines schützenden Kapsids vermutlich keine hohe Tenazität mehr gegeben. Es liegen keine publizierten Studien vor, in denen die Beständigkeit solcher PCV2-Genomfragmente in der Umgebung bzw. auf den hier untersuchten Oberflächen untersucht worden ist.

Auch diese Frage kann nicht mit mithilfe von Literatur beantwortet werden, dazu gibt es keine Untersuchungen. Möglicherweise haben Umwelteinflüsse, wie UV-Licht oder Enzyme im Kot oder Harn der Schweine, einen erheblichen Einfluss auf die virale DNA, sodass sie sich nicht über einen längeren Zeitraum in der Umgebung halten kann. Dies würde für die niedrigen Mengen detektierter PCV2-DNA in dieser Untersuchung sprechen. Das Virus würde sich somit nicht in den Buchten anreichern, sondern möglicherweise nur für eine unbestimmt kurze Zeit vorhanden sein. Dann wäre die hier detektierte DNA mutmaßlich erst kurz vor der Probennahme von den Mastschweinen ausgeschieden worden sein. Von derartigen Genomfragmenten würde demnach kein potentiell Risiko für eine horizontale Übertragung ausgehen.

Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass durch das natürliche Verhalten der Schweine ausgeschiedene PCV2-DNA möglicherweise von den Tieren oral aufgenommen oder beispielsweise durch Urin oder Tränke-Wasser weggespült wurde.

3. Auswahl der PCV2-positiven Betriebe

Das primäre Auswahlkriterium für die untersuchten Betriebe war die Einstufung als PCV2-positiv. Eine klinische Ausprägung einer PCV2-Infektion in den Beständen war dabei nicht relevant. PCV2 ist ubiquitär in der Schweinepopulation verbreitet und kann sowohl in gesunden als auch in klinisch erkrankten Schweinen nachgewiesen werden (SEGALÉS et al., 2005a; OPRIESSNIG und HALBUR, 2006). Im Rahmen der Voruntersuchung der Studie der Dissertation BEISL (2020) konnte in den zwölf Beständen, deren Mastabteile in dieser Studie untersucht wurden, PCV2-DNA in Oral Fluid Proben detektiert werden.

Die hier durchgeführte Untersuchung erfolgte zwei bis elf Monate nach der Gewinnung der Oral Fluids durch BEISL (2020). Es wurde in zehn (83%) der zwölf teilnehmenden Betriebe PCV2-DNA in mindestens einer Probe nachgewiesen. In keiner der jeweils 28 untersuchten Proben aus den Betrieben 8 und 12 konnten PCV2-spezifische Genomfragmente detektiert werden. Die beiden Bestände wurden somit in der hier vorliegenden Untersuchung nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Betrieb 8 (geschlossenes Betriebssystem) wurde vier Monate und Betrieb 12 (geschlossenes Betriebssystem) elf Monate nach der Gewinnung der Oral Fluid Proben (BEISL, 2020) mittels Wischproben untersucht. Dabei handelte es sich bei den potentiell PCV2-ausscheidenden Endmastschweinen in den hier untersuchten Abteilen in keinem der zwölf Betriebe um dieselben Tiergruppen, von denen die Oral Fluid Proben gewonnen wurden. Die Speichelproben wurden in der 18. Lebenswoche der Schweine genommen. Die in der Studie durchgeführte Probennahme erfolgte in Abteilen mit Schweinen im schlachtreifen Alter. Dieses Alter bzw. Gewicht ist etwa in der 24. Lebenswoche der Tiere erreicht. Demnach enthielten die untersuchten Mastabteile vier bzw. elf Monate später andere Schweine, die zu einem späteren Zeitpunkt geboren wurden und höchstwahrscheinlich aus anderen Anpaarungen stammten. Die epidemiologische Situation kann sich von Tiergruppe zu Tiergruppe ändern, sodass es möglich ist, dass diese anderen Tiergruppen weniger oder kein Virus ausschieden.

Da es sich um Betriebe handelt, die in einem geschlossenen System wirtschaften kann eine andere Herkunft der Schweine in diesem Fall nahezu ausgeschlossen werden. Das Arbeiten im geschlossenen System beinhaltet das Mästen der eigens erzeugten Ferkel, ein Zukauf findet in diesen Betrieben lediglich bei den Sauen statt. Würde ein Zukauf von Aufzuchtieren stattfinden und wäre die Herkunft dieser Tiere gewechselt worden, könnte an dieser Stelle ein möglicher Grund für die fehlende Detektion viraler DNA angenommen werden.

Ebenfalls muss an dieser Stelle überlegt werden, ob die in den Betrieben 8 und 12 gewonnenen Wischproben zwar PCV2-haltiges Material enthielten, die DNA-Menge jedoch unter der Nachweisgrenze der

verwendeten qPCR lag und somit die molekularbiologische Untersuchung an dieser Stelle auf eine Limitation der Studie hindeutet. Eine weitere Möglichkeit bestünde darin, dass die beprobte Fläche in diesen Betrieben nicht ausreichte, um genug Material mit den Wischproben aufzunehmen.

4. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung

4.1. PCV2-DNA Nachweis zum Zeitpunkt des Ausstallens

Um das Ausmaß der Kontamination der Mastabteile und Arbeitsmittel zum Zeitpunkt des Ausstallens von Endmastschweinen mit PCV2 zu eruieren, wurden in einer ersten Probennahme 260 Wischproben in zehn ungereinigten Abteilen genommen. Von 140 untersuchten Proben konnte in 61,4% (86/140) PCV2-DNA mittels real-time qPCR detektiert werden. Die PCV2-Nachweisraten der einzelnen Betriebe reichen dabei von 14,3% (Betrieb 6) bis hin zu 78,6% (Betrieb 5 und 9) und zeigen somit eine große Diversität. In acht der zehn Betriebe wurde allerdings in mehr als 50,0% der Proben PCV2-DNA nachgewiesen. In einer vergleichbaren Untersuchung konnte in 42,9% der Umgebungsproben PCV2-DNA detektiert werden (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019). Auch die spanischen Autoren beobachteten große Unterschiede der Nachweisraten in den fünf untersuchten ferkelerzeugenden Betrieben. Mit 86,7% positiver Umgebungsproben konnten sie die höchste Nachweisrate in einem Betrieb detektieren, der zuvor anhand von Blutproben und dem klinischen Erscheinungsbild als Betrieb mit systemischer PCV2-Erkrankung eingestuft wurde (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019). Die in der hier vorliegenden Studie untersuchten Betriebe wurden vor der Probennahme als PCV2-positiv eingestuft (BEISL, 2020), es wurde jedoch nicht, wie bei LÓPEZ-LORENZO et al. (2019) durch weitere Untersuchungen eine Unterteilung in subklinisch infiziert und systemisch erkrankt vorgenommen. Dennoch wurde insgesamt eine deutlich höhere PCV2-Kontamination der Umgebung beobachtet als in der spanischen Publikation. Dies könnte auf das unterschiedliche Studiendesign zurück zu führen sein. Die spanischen Autoren verwendeten für ihre Umgebungsproben trockene Abstrich-Tupfer mit einem Durchmesser von 11 mm. Es ist davon auszugehen, dass eine solche Tupfer-Probe nicht in

der Lage ist, eine gleichwertige Menge an Material von den beprobten Oberflächen aufzunehmen wie die hier verwendeten Mullkompressen aus Gaze. Wenn also mehr Material aufgenommen werden kann, ist die Wahrscheinlichkeit höher PCV2-DNA in einer Probe zu detektieren.

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Kontamination von Mastabteilen untersucht. Im Gegensatz dazu wurden in der Studie aus dem Jahr 2019 Umgebungsproben aus Warteställen, Abferkelbuchten und Aufzuchtställen ausgewertet und die größte Kontamination in den Abteilen mit den abgesetzten Ferkeln (Aufzuchtställe) detektiert (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019). Somit bezog sich die Untersuchung auf die Umgebung einer anderen Altersgruppe als die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Abteile der Endmastschweine. Es liegt keine veröffentlichte Publikation vor, die ebenfalls das Augenmerk auf die Untersuchung von Mastabteilen legt. Mastställe sind in der Regel räumlich, zum Teil auch örtlich, getrennt von den anderen Produktionsstätten in der Schweinehaltung. Neu eingestellte Tiergruppen hatten zuvor keinen physischen Kontakt zu diesen Stallungen. Im Regelfall werden Aufzuchtferkel mit einem Alter von zwölf Wochen in die Mastabteile eingestallt und verbleiben dort bis zum Ende der Mastperiode. Nur in Ausnahmefällen werden einzelne Tiere in andere Buchten oder Abteile verbracht. Aus diesem Grund ist davon auszugehen, dass die Kontamination der hier untersuchten Mastabteile in dem Zeitraum von der 12. Lebenswoche der Schweine bis zum Zeitpunkt des Ausstallens (24. Lebenswoche) erfolgt ist.

Aus verschiedenen Publikationen geht hervor, dass Absetzferkel mit einem Alter von zwölf Wochen zu der Altersgruppe gehören, in der die höchsten Ausscheidungsmengen beobachtet werden können. In einer Felduntersuchung aus dem Jahr 2003 wurde eine ansteigende PCV2-Ausscheidung in Kot und Nasensekret bis zu dem 3. - 4. Lebensmonat der Tiere beobachtet (SHIBATA et al., 2003). Auch SEGALÉS et al. (2005a) stellten fest, dass in den untersuchten Proben der Studientiere mit einem Alter von > 1,5 Monaten höhere Virus-DNA-Mengen nachzuweisen sind. In der vorliegenden Untersuchung wurde im Gegensatz zur Beprobung mittels Nasen- oder Kottupfern (SHIBATA et al., 2003; SEGALÉS et al., 2005a) keine

Einzeltierdiagnostik zu einem bestimmten Zeitpunkt vorgenommen sondern es muss davon ausgegangen werden, dass die an den Gegenständen detektierte Virus-DNA zu verschiedenen Zeitpunkten von unterschiedlichen Schweinen ausgeschieden wurde. Dies kann innerhalb einiger Tage oder über mehrere Wochen erfolgt sein. Betrachtet man also die Tatsache, dass die neu eingestellten Tiere potentiell hohe Mengen an PCV2-DNA in verschiedenen Se- und Exkreten ausscheiden zusammen mit dem Fakt, dass das von den teilnehmenden Betrieben durchgeführte Rein-Raus-System während der Mastperiode keine zwischenzeitliche Reinigung und Desinfektion der Abteile vorsieht, kann geschlussfolgert werden, dass die ausgeschiedene Virus-DNA in Mastställen optimale Voraussetzungen vorfindet, um sich in der Umgebung zu halten, über die die Mastperiode hinweg anzureichern und so zum Zeitpunkt der hier vorgenommenen Probennahme nachweisbar ist. Die vorliegenden Ergebnisse sprechen jedoch nicht dafür. An dieser Stelle muss auf die bereits angestellte Überlegung (Kapitel V.2.) eingegangen werden, dass die ermittelten Ct-Werte dieser Studie eher darauf hinweisen, dass die PCV2-DNA in der Umgebung als Genomfragmente vorliegt, durch äußere Bedingungen beeinflusst wird und somit nicht lang in den Buchten detektierbar ist und keine Anreicherung über die Mastperiode hinweg erfolgt. Somit bestünde ein deutlich geringeres Risiko der horizontalen PCV2-Übertragung als ursprünglich angenommen.

In den Proben aller sechs untersuchten Gegenstands-Gruppen wurde in dieser Untersuchung PCV2-DNA nachgewiesen. Betrachtet man die PCV2-Nachweisraten der verschiedenen untersuchten Gegenstände, wird ersichtlich, dass 80,0% der untersuchten Buchtenwände mit Virus-DNA kontaminiert waren. Auch LÓPEZ-LORENZO et al. (2019) wiesen in den untersuchten Absetzabteilen hohe DNA-Mengen an den Buchtenwänden nach. In dem von ihnen untersuchten Bestand mit klinischer PCV2-Erkrankung waren 100% der untersuchten Buchtenwände aus den Absetzabteilen positiv (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019). Die im Vergleich höhere Nachweisrate in der spanischen Publikation ist vermutlich durch das Vorhandensein von einem klinischen Erscheinungsbild bedingt, da auch die anderen untersuchten Bereiche aus den Absetzabteilen eine

derart hohe Nachweisrate vorweisen, die Absetzabteile aus den subklinisch infizierten Betrieben allerdings nur insgesamt 58,3% positive Wischproben hatten (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019). Einzelne PCV2-Nachweisraten für die Buchtenwände dieser subklinisch infizierten Bestände geben die Autoren nicht an. Aufgrund fehlender publizierter Ergebnisse kann kein Vergleich zu der Kontamination von Buchtenwänden aus Mastabteilen vorgenommen werden.

Der häufige Nachweis von PCV2-DNA an den Buchtenwänden ist höchstwahrscheinlich auf die große Kontamination mit Kot zurückzuführen. Makroskopisch besaßen die Buchtenwände während der Probennahme den höchsten Verschmutzungsgrad. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit gründlicher Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen für Buchtenwände nach dem Ausstallen der Mastschweine.

Auch an dem Großteil der untersuchten Stiefel aus der ersten Probennahme konnte PCV2-DNA nachgewiesen werden. So waren 8/10 (80,0%) Stiefel positiv. Dieses Ergebnis wird durch die Untersuchung von DÍAZ CAO et al. (2018) gestützt. In der Studie wurden zertifizierte Stiefelüberzieher und nicht-zertifizierte Stiefelüberzieher hinsichtlich einer PCV2-Kontamination nach einem einstündigen Aufenthalt in Schweineställen untersucht (DÍAZ CAO et al., 2018). Bei dem Großteil der nicht-zertifizierten Überzieher konnte sowohl an den Überziehern selbst als auch an dem darunter getragenen Schuhwerk PCV2-DNA nachgewiesen werden, obwohl zu keiner Zeit direkter Kontakt zu den Tieren bestand (DÍAZ CAO et al., 2018). Auch LÓPEZ-LORENZO et al. (2019) wiesen eine deutliche Kontamination der Stallkleidung und der Stiefel mit PCV2-DNA nach.

Stiefel und Arbeitsschuhe gehören zu den Arbeitsmitteln, die abteilübergreifend verwendet werden. Betriebe, die im geschlossenen System arbeiten und hohe Standards an die interne Biosicherheit besitzen, verwenden womöglich unterschiedliche Arbeitsschuhe für die verschiedenen Produktionsstufen. Innerhalb der Mastställe wird jedoch im Regelfall kein Wechsel des Schuhwerks vorgenommen, bevor ein anderes Abteil mit einer anderen Tiergruppe betreten wird. Das abteilübergreifende Tragen dieser Schuhe und Stiefel bringt eine höhere

Wahrscheinlichkeit der DNA-Detektion mit sich, da die Se- und Exkrete von deutlich mehr Tieren mit dem Schuhwerk in Berührung kommen können. Wie DÍAZ CAO et al. (2018) zeigten, ist für eine Kontamination dabei kein direkter Kontakt zu Tieren notwendig, es reicht, wenn die Abteilgänge betreten werden. Die hier angestellten Vermutungen werden durch Beobachtungen von BACKHANS et al. (2015) gestützt, die in ihrer Studie über die Biosicherheit in schwedischen Schweinebeständen herausfanden, dass die internen Biosicherheitsmaßnahmen zwischen den einzelnen Produktionsstufen in den befragten Betrieben niedrig sind. So wurde in nur 8,0% der geschlossenen Betriebe ein Kleidungs- und Schuhwechsel vorgenommen, bevor die Stallungen einer anderen Altersgruppe betreten wurden und nur 5,0% der Betriebe verwendeten Fußbäder bzw. festinstallierte Stiefelreiniger vor dem Eintreten (BACKHANS et al., 2015). Von Personal getragene, kontaminierte Stallkleidung, die während den täglichen Arbeiten in verschiedenen Betriebsbereichen getragen wird, kann wesentlich an der Verbreitung des Virus innerhalb eines Betriebes beitragen (LÓPEZ-LORENZO et al., 2019). Umso wichtiger ist es, die abteilübergreifend verwendeten Arbeitsschuhe in alltäglichen Hygienemaßnahmen mit einzubeziehen.

An 63,3% der hier untersuchten Beschäftigungsmaterialien aus den ungereinigten Abteilen wurde PCV2-DNA nachgewiesen. Beschäftigungsmaterialien gehören laut §26 der Tierschutz-Nutztierhaltungsverordnung (TierSchNutzV) zu den allgemeinen Anforderungen an das Halten von Schweinen (BUNDESMINISTERIUM FÜR JUSTIZ UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2001). Das Gesetz sieht vor, dass jedes Schwein jederzeit Zugang zu Beschäftigungsmaterialien hat, welche von den Schweinen untersucht, bewegt und verändert werden können (BUNDESMINISTERIUM FÜR JUSTIZ UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2001). Genauere Vorgaben zur Art dieser Materialien werden nicht gemacht. Besonders geeignet sind Gegenstände aus natürlichen Materialien wie Holz, Stroh oder Jute (EUROPÄISCHE KOMMISSION, 2016). Stroh oder Jutesäcke haben dabei eine kurze Nutzungsdauer, werden in der Regel von den Schweinen oral aufgenommen und haben somit einen von der EUROPÄISCHE

KOMMISSON (2016) erwünschten ernährungsphysiologischen Nutzen. Holzblöcke verweilen über einen längeren Zeitraum in den Buchten und können durch die Schweine gut verformt werden. Die raue und poröse Oberfläche von Holz bietet jedoch keine optimalen Bedingungen für eine Reinigung (BÖHM, 1998) sowie eine Desinfektion. Daher sollten Holzblöcke nach einer Mastperiode verworfen werden und für eine nachfolgende Tiergruppe neues Holz zur Verfügung gestellt werden, um eine Übertragung von Krankheitserregern im organischen Material zu vermeiden. Auch PRANGE (2004) weist darauf hin, dass im Zuge der Vorarbeiten einer Reinigung alle nicht benötigten Gegenstände von geringem Wert aus dem Stall entfernt und vernichtet werden sollen.

Der Großteil der hier untersuchten Beschäftigungsmaterialien bestand aus Edelstahlketten, die an einer oder mehreren Stellen in den Buchten an einem Vorsprung angebracht waren. Die so herunterhängenden Ketten sind für die Schweine zugänglich und können mit dem Rüssel und dem Maul erkundet werden, dies gehört zu den geforderten Eigenschaften des Beschäftigungsmaterials (EUROPÄISCHE KOMMISSON, 2016). Zusätzlich am Ende der Ketten angebrachte Hartplastik-Teile (z.B. Kugeln oder Scheiben) sollen die Edelstahlketten aufwerten und die vom Gesetz verlangte Veränderbarkeit erbringen. Edelstahl mit einer glatten Beschaffenheit ist sehr gut zu reinigen (BÖHM, 1998). Durch die Verkettung einzelner Edelstahlringe entstehen Zwischenräume, die unter Umständen mit einem Hochdruckreiniger nicht optimal zugänglich sind, sodass gegebenenfalls organisches Material zurückbleiben kann. Die Oberfläche dieser Anhänge wird nach einiger Zeit, durch die Bearbeitung mit dem Maul und der Zähne, rau. Auch hier können sich organisches Material und Krankheitserreger ansammeln. PCV2-DNA kann in hohen Mengen im Speichel infizierter Tiere über einen Zeitraum von mindestens 98 Tagen nachgewiesen werden (PRICKETT et al., 2011). Auch PATTERSON et al. (2011a) weisen eine PCV2-Ausscheidung in oralen Sekreten für mindestens 69 Tage nach experimenteller Infektion nach. Durch das Bearbeiten der Beschäftigungsmaterialien mit dem Maul kann Virus-DNA zurückbleiben, die mittels Wischproben und anschließender qPCR quantifiziert werden kann.

4.2. Einfluss der Reinigung und Desinfektion auf den Nachweis von PCV2-DNA in den Mastställen

Nach der Reinigung und ggf. Desinfektion wurden in einer zweiten Probennahme erneut Wischproben in denselben Mastabteilen genommen. In der vorliegenden Studie konnte für jede untersuchte Gegenstands-Gruppe eine numerische Reduktion des PCV2-Nachweises ermittelt werden. Es wurde gezeigt, dass 95,4% (82/86) der untersuchten Flächen und Gegenstände nach der Reinigung und ggf. Desinfektion eine Erhöhung des Ct-Wertes und so eine Abnahme der PCV2-DNA-Konzentration vorwiesen. Dieses Ergebnis war zu erwarten, da durch eine Reinigung die Ausscheidungen der Tiere gewaschen werden, sich also anschließend kaum organisches Material auf den Oberflächen befindet. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen einer Reinigung und einer zusätzlich durchgeführten Desinfektion hinsichtlich des PCV2-DNA-Nachweises an den untersuchten Gegenständen festgestellt werden.

Eine Desinfektion wird immer nach der Reinigung und Trocknung der Oberflächen durchgeführt, das Desinfektionsmittel wird dabei aufgetragen und verbleibt in den meisten Fällen auf den Flächen. Durch diesen Vorgang wird somit keine zusätzliche Reduzierung des organischen Materials bewirkt. Demnach mag eine zusätzliche Desinfektion der Mastabteile keinen Einfluss auf die ermittelten Nachweisraten gehabt haben, weil nach der Desinfektion die gleiche Menge viraler DNA detektierbar ist. Allerdings ist es möglich, dass durch eine für Circoviren ausgerichtete Desinfektion die Infektiosität von PCV2 herabgesetzt wird. Dies wurde in dieser Untersuchung nicht getestet. Ähnliche Beobachtungen machten auch PATTERSON et al. (2011b). Anhand von kontaminierten Modell-Tiertransportern wurde gezeigt, dass sich nach dem Schritt des Waschens signifikant weniger PCV2-DNA auf den untersuchten Flächen nachweisen lässt (PATTERSON et al., 2011b). Anschließend wurden vier verschiedene Desinfektionsprotokolle verwendet und erneut Umgebungsproben aus den Modell-Tiertransportern untersucht. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen dem Schritt des Waschens und der zusätzlichen Verwendung

eines Desinfektionsmittels detektiert werden (PATTERSON et al., 2011b). PATTERSON et al. (2011b) geben an, dass PCV2-Titer durch verschiedene Desinfektionsmittel reduziert, aber nicht vollständig eliminiert werden und bekräftigen damit die Ergebnisse aus der Untersuchung von MARTIN et al. (2008).

Unter Berücksichtigung der eigenen Ergebnisse erscheint eine zusätzliche Desinfektion nach dem Schritt des Waschens der Mastabteile nicht zwingend notwendig. Jedoch kann diese Aussage nur für PCV2 gemacht werden. Da andere Pathogene in dieser Untersuchung nicht erfasst wurden, kann man keine allgemeine Empfehlung über die Desinfektion in Mastställen aussprechen. Trotz der Bestätigung, dass die Reinigung den Hauptteil einer Dekontamination der Mastabteile ausmacht, geht aus dieser Untersuchung hervor, dass die von den Betrieben getroffenen Maßnahmen nicht vollständig ausreichen, da in der zweiten Probennahme PCV2-DNA detektiert wurde. Es empfiehlt sich daher dringend, die Reinigungsmaßnahmen zu modifizieren und Desinfektionsprotokolle dem im Stall befindlichen Keimspektrum anzupassen, dies setzt eine regelmäßige Bestandsdiagnostik voraus.

Signifikante Unterschiede in der Nachweisrate konnten in dieser Untersuchung für die Buchtenwände und die Beschäftigungsmaterialien ermittelt werden. Bei den untersuchten Buchtenwänden konnte die Nachweisrate von 80,0% auf 13,3% reduziert werden. Auch in der Gruppe der untersuchten Beschäftigungsmaterialien war die reduzierte Nachweisrate signifikant. Es liegt keine vergleichbare Studie vor, die die PCV2-Kontamination an Beschäftigungsmaterialien in Mastabteilen untersucht. Für beide Gegenstands-Gruppen kann die Reinigung allein als Grund für die deutlich geringere Anzahl an positiver Proben angesehen werden.

Bei den untersuchten Futtertrögen, Stiefeln und Treibbrettern wurde die PCV2-Nachweisrate um nur jeweils 20,0% reduziert (Abbildung 3). Stiefel und Treibbretter zählen zu den abteilübergreifenden Arbeitsmitteln. Wie bei den Arbeitsschuhen, können auch LÓPEZ-LORENZO et al. (2019) in ihren Untersuchung PCV2-DNA an den Treibbrettern von drei der fünf untersuchten Bestände detektieren. Die hohe Anzahl kontaminierter

Arbeitsmittel in der zweiten Probennahme dieser Untersuchung ist sehr wahrscheinlich unter anderem darauf zurückzuführen, dass die Stiefel und Treibbretter nicht in allen Betrieben einer regelmäßigen Reinigung und Desinfektion unterzogen werden. Die Treibbretter sind oftmals in den Stallgängen zu finden und werden bei Bedarf in die jeweiligen Abteile verbracht. Wie bei den Stiefeln ist es nicht üblich, diesen Gebrauchsgegenstand täglich zu reinigen und zu desinfizieren. Die Verwendung in verschiedenen Tiergruppen und Abteilen erhöht jedoch das Kontaminations- und Verschleppungsrisiko. Die Treibbretter bestehen aus Hartplastik, durch die glatte Beschaffenheit müsste dies ähnlich gut, wie beispielsweise Buchtenwände, zu reinigen sein. Allerdings ist die Oberfläche von Treibbrettern in aller Regel dreidimensional gestaltet. Die eingearbeiteten, länglichen Vertiefungen erschweren eine Reinigung, wodurch sich organisches Material und Erreger besonders dort ansammeln können. Dies könnte ein Grund für die geringe Reduktion der Nachweisrate sein.

Ein ähnlicher Grund könnte für die PCV2-Nachweisrate an den Stiefel vorliegen. Stiefel bestehen aus Gummi, welches ebenfalls eine glatte Oberfläche hat und somit leicht zu reinigen ist. Betrachtet man allerdings die Sohle der Arbeitsschuhe, kann sich in dem Profil der Schuhe Schmutz und Kot akkumulieren. Durch diese ebenfalls dreidimensionale Struktur wird eine Reinigung erschwert. Auch hier ergibt sich die Notwendigkeit einer gründlichen und regelmäßigen Reinigung, um eine Keimverschleppung zu minimieren. Eine Alternative wäre Arbeitsschuhe zu verwenden, die eine glatte Sohle besitzen, welche leichter zu reinigen ist.

Auch bei den untersuchten Futtertrögen wurde die PCV2-Nachweisrate nur von 50,0% auf 30,0% reduziert. In den Futtertrögen aus den gereinigten Ställen befanden sich keine Futterreste mehr. Die Anwesenheit von PCV2-haltigem Speichel an diesen Futtertrögen wird nach der Reinigung als sehr unwahrscheinlich erachtet. Ein naheliegender Grund kann in einem fehlerhaften Vorgehen der Reinigung gemutmaßt werden. Bei den untersuchten Futtertrögen handelte es sich um festinstallierte Futtertröge am Boden der Abteile. Durch die Verwendung eines

Hochdruckreinigers wird vor allem am Boden liegender Kot mit großem Druck weg gespritzt. Wenn man also den Hochdruckreiniger fälschlicherweise in Richtung der Futtertröge auf den Boden richtet, um dort befindlichen Kot zu beseitigen, wird dieser nicht ausschließlich direkt durch die Spalten in den Böden weggespült, sondern je nach Aufprallwinkel des Wasserstrahls kann er nach oben an Futtertröge oder Buchtenwände befördert werden. Ebenso kann durch eine Hochdruckreinigung virushaltiges Material von den Buchtenwänden herab zum Futtertrog gelangen. In diesem Fall läge ein offenkundiger Anwenderfehler vor, der durch eine korrigierte Durchführung der Nassreinigung und/oder korrekte Schulung von Betriebspersonal leicht behoben werden könnte. Für den Vorgang des Reinigens liegt somit die Notwendigkeit vor, mit dem Hochdruckreiniger von den Futtertrögen weg, in die entgegengesetzte Richtung zu arbeiten, um so eine (Re-)Kontamination zu vermeiden.

Diese Theorie könnte auch eine Erklärung dafür sein, dass in neun der 140 Wischproben aus der zweiten Probennahme PCV2-DNA detektiert werden konnte, obwohl die untersuchten Objekte in der ersten Probennahme negativ waren (Tabelle 18 und Tabelle 19). Entweder wurden diese untersuchten Flächen und Gegenstände nicht ausreichend gereinigt oder es erfolgte eine Kontamination durch einen falsch durchgeführten Reinigungsvorgang, sodass an den beprobten Stellen virale DNA detektierbar war.

Die Untersuchung zeigt, dass eine Reinigung der Mastabteile die PCV2-Kontamination reduziert, wodurch deutlich weniger virale DNA nachweisbar ist. Wie in Kapitel 2 der Diskussion beschrieben, kann angenommen werden, dass es sich bei der nachgewiesenen DNA nicht um infektiöses Virus handelt. Die Ergebnisse deuten demnach darauf hin, dass das Risiko einer PCV2-Infektion nach abgeschlossenen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen für eine nachfolgende Tiergruppe gering ist.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

„Untersuchung über das Vorkommen von PCV2-DNA in der Umgebung von Mastschweinen und die Auswirkungen von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen auf den Nachweis viraler DNA“

Um das Risiko einer horizontalen Infektion für eine nachfolgende Tiergruppe abzuschätzen, wurde in der vorliegenden Arbeit die Kontamination von Mastabteilen mit dem porcinen Circovirus Typ 2 und der Effekt der betriebsinternen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen auf den Nachweis der viralen DNA untersucht. Dafür wurden in zwölf zuvor PCV2-positiv getesteten Mastbeständen Wischproben von Einrichtungsgegenständen und Arbeitsmitteln vor und nach der Reinigung und Desinfektion genommen und diese mittels einer quantitativen real-time PCR auf spezifische PCV2-Genomfragmente untersucht.

Für die Wischproben wurden Mullkompressen, die kurz vor der Probennahme in 8 ml PBS-Lösung getränkt und in einem verschließbaren Gefäß gelagert wurden, verwendet. Die erste Beprobung fand vor der Reinigung und Desinfektion in den noch nicht gereinigten Abteilen statt. Durch eine Aufzeichnung wurden die genauen Beprobungsstellen notiert, sodass die zweite Beprobung an denselben Stellen, nach abgeschlossenen Reinigungs- und ggf. Desinfektionsmaßnahmen, erfolgen konnte. In jedem der zwölf Betriebe wurden pro Probennahme Futtertröge, Buchtenwände, Nippeltränken und Beschäftigungsmaterialien aus drei verschiedenen Buchten desselben Abteils untersucht. Zusätzlich wurde pro Bestand ein Treibbrett und ein Stiefel, als abteilübergreifende Arbeitsmittel, die nur indirekten oder kaum Kontakt zu den Schweinen hatten, beprobt. So wurden insgesamt 624 Wischproben gewonnen. Die betriebsinternen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen wurden mittels eines Fragebogens erhoben. Die abzentrifugierten Flüssigkeiten der Wischproben wurden, für die Futtertröge und Buchtenwände pro Bucht gepoolt, mittels real-time qPCR auf PCV2-spezifische DNA untersucht.

In dieser Untersuchung konnte in 10/12 (83,3%) Betrieben PCV2-DNA nachgewiesen werden. Aus den Proben von zwei Beständen konnte keine

virale DNA detektiert werden. In 61,4% (86/140) der Proben aus den ungereinigten Abteilen gelang der Nachweis von PCV2-DNA. Dabei konnten die höchsten Nachweisraten für die Buchtenwände und die Stiefel ermittelt werden, hier waren jeweils 80% aller Proben positiv. Nach der Reinigung und ggf. Desinfektion wurde in 25,0% (35/140) der Proben Virus-DNA nachgewiesen. Die PCV2-Nachweisraten für die Buchtenwände und die Beschäftigungsmaterialien verringerten sich in den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen signifikant. Sechs der zehn PCV2-positiven Betriebe führten eine der Reinigung angeschlossene Desinfektion der Mastabteile durch.

Die Untersuchung zeigte, dass die PCV2-Kontamination in den Mastställen deutlich reduziert wurde, jedoch zum Zeitpunkt des Einstellens einer neuen Tiergruppe eine Rest-Kontamination vorhanden ist. Eine Unterscheidung zwischen infektiösem Virus und inaktivem Virusmaterial kann durch die molekularbiologische Untersuchung mittels PCR nicht vorgenommen werden. Im Falle der Detektion von infektiösem Virus ist davon auszugehen, dass die PCV2-belastete Umgebung ein deutliches Ansteckungsrisiko für nachfolgende Tiergruppen darstellt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Reinigung eine signifikante Reduktion der Anzahl PCV2-DNA-positiver Gegenstände und Arbeitsmittel erwirkte. Eine zusätzliche Desinfektion erbrachte keine weitere Reduktion der vorhandenen Viruslast. Auffällig war, dass vor allem ein Großteil der untersuchten Stiefel nach der Reinigung noch immer PCV2-positiv waren. Die Ergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit bei der PCV2-Bekämpfung ein besonderes Augenmerk auf eine korrekt und gründlich durchgeführte Reinigung der Stallabteilungen zu legen. Diese sollte unbedingt auch die Gegenstände und Arbeitsmittel miteinbeziehen, die abteilübergreifend verwendet werden. Jedoch stellen die hohen Ct-Werte ein potentiellies Risiko der horizontalen Übertragung ausgehend von der PCV2-Kontamination in Mastabteilen in Frage.

VII. SUMMARY

„Study about the occurrence of PCV2-DNA in fattening compartments and the effects of cleaning and disinfection measures on virus-DNA detection“

To estimate the risk of horizontal infection for a subsequent group of animals the present study investigates the contamination of fattening compartments with porcine circovirus type 2 and evaluates the effect of the farmers in-house cleaning and disinfection measures on the detection of the virus. For this purpose environmental swipe samples were taken from furnishings and work equipment in twelve PCV2-positive fattening stocks before and after cleaning and disinfection. These samples were examined for specific PCV2 genome fragments by quantitative real-time PCR.

Environmental samples were collected using one gauze swab for each sample which was soaked in 8 ml PBS solution shortly before sampling and was stored in a sealable vessel until usage. The first sampling took place before cleaning and disinfection in the dirty compartments. The exact sampling points were noted by means of a record so that the second sampling could take place at the same spots after cleaning and, if carried out by the farmers, disinfection measures had been completed. In each of the twelve farms feed troughs, pen walls, nipple drinkers and manipulable materials from three different pens in the same compartment were sampled. Additionally, one driving board and one boot as cross-departmental work equipment, which had only indirect or hardly any contact with the pigs, were sampled per farm. This way a total of 624 swipe samples were obtained. The in-house cleaning and disinfection measures were recorded using a questionnaire. The liquids of the swipe samples were collected by centrifugation and were examined, in pen-pools for the feeding troughs and pen walls, using a real time qPCR.

In this study PCV2-DNA could be detected in 10/12 (83.3%) farms. All samples from farms 8 and 12 were negative. PCV2-DNA was detected in 61.4% (86/140) of the samples collected in the uncleaned compartments. The highest detection rates could be determined for pen walls and the

boots, 80.0% of all samples were positive. After cleaning and, if carried out, disinfections virus DNA was detected in 25.0% (35/140) of the samples. The PCV2 detection rates of the pen walls and the manipulable materials decreased significantly in the cleaned and, if carried out, disinfected compartments. Six out of the ten PCV2-positive farms carried out a disinfection of the fattening compartments after cleaning.

The investigation showed that the PCV2 contamination in the fattening compartments was significantly reduced, but that there was residual contamination at the time a new group of animals would be introduced. A difference between infectious virus and inactive virus cannot be made by using the PCR. If the detected virus is infectious it can be assumed that the PCV2-contaminated environment represents a high risk of infection of subsequent animal groups.

It could also be shown that cleaning resulted in a significant reduction in the number of PCV2-DNA-positive objects and work equipment. Additional disinfection did not result in any further reduction in the existing viral load. It was noticeable that the majority of the boots examined were still PCV2-positive after cleaning. The results underline the need to pay special attention to correctly and thoroughly cleaning of stables when fighting PCV2. This should definitely be extended to items and work equipment that are used cross-compartmental. However, the results question the level of potential risk of horizontal transmission from PCV2 contamination in fattening compartments.

VIII. TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabelle 1: Arbeitsschritte der Reinigung in Schweineställen, modifiziert nach PRANGE (2004)</i> | <i>14</i> |
|--|-----------|

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabelle 2: Übersicht der Betriebsdaten der zwölf eingeschlossenen Betriebe, modifiziert nach BEISL (2020) (P/R = Parvo/Rotlauf, IAV = Influenza, Clos = Clostridien, GI = Glässerella parasuis)</i> | <i>23</i> |
|--|-----------|

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabelle 3: Anzahl der genommenen Wischproben pro Bucht (n = 3/Bestand) und Bestand (n = 12) aufgeführt für die sechs untersuchten Gegenstände sowie die jeweilige Gesamtanzahl der Wischproben pro Beprobung (n = 2).....</i> | <i>24</i> |
|--|-----------|

| | |
|---|-----------|
| <i>Tabelle 4: Temperaturprotokoll der durchgeführten real-time qPCR nach ZHAO et al. (2010) modifiziert nach EDDICKS et al. (2016).....</i> | <i>29</i> |
|---|-----------|

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabelle 5: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Oral Fluids der Betriebe 1 - 12, modifiziert nach BEISL (2020) (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung).....</i> | <i>32</i> |
|--|-----------|

| | |
|---|-----------|
| <i>Tabelle 6: Vorgehen der zwölf Betriebe im Rahmen der Reinigung der Mastabteile</i> | <i>33</i> |
|---|-----------|

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabelle 7: Angaben aus dem Fragenbogen zu den Desinfektionsmaßnahmen der zwölf Betriebe</i> | <i>35</i> |
|--|-----------|

| | |
|---|-----------|
| <i>Tabelle 8: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des ersten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar)</i> | <i>40</i> |
|---|-----------|

*Tabelle 9: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des zweiten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar).....*41

*Tabelle 10: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des dritten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar).....*42

*Tabelle 11: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des vierten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar).....*43

*Tabelle 12: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des fünften Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar).....*44

*Tabelle 13: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des sechsten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar).....*45

*Tabelle 14: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des siebten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar).....*46

Tabelle 15: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des neunten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar) 47

Tabelle 16: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des zehnten Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar) 48

Tabelle 17: Ct-Werte für die PCV2-positiven Proben der ersten und zweiten Probennahme des elften Betriebs. Die niedrigsten Ct-Werte sind fett markiert (MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, n.n. = nicht nachweisbar) 49

Tabelle 18: Darstellung der Ct-Werte (n = 240) der untersuchten Futtertröge, Buchtenwände, Nippeltränken und Beschäftigungsmaterialien aus der ersten (vor) und der zweiten (nach) Probennahme der zehn PCV2-positiven Betriebe anhand einer Farbkodierung (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien) 50

Tabelle 19: Darstellung der Ct-Werte (n = 40) der untersuchten Stiefel und Treibbretter aus der ersten (vor) und der zweiten (nach) Probennahme der zehn PCV2-positiven Betriebe in einem Ampel-System 51

Tabelle 20: Statistischer Vergleich der absoluten Häufigkeiten des PCV2-Nachweises der Wischproben aus den ungereinigten Mastabteilen (vor) und der Wischproben aus den gereinigten und ggf. desinfizierten Mastabteilen (nach). Aufgeführt sind die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Test nach Pearson und der Risikoschätzung (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien; OR = Odds-Ratio) 53

Tabelle 21: Statistischer Vergleich der absoluten Häufigkeiten des PCV2-Nachweises der Proben aus den gereinigten Mastabteilen (R) (n = 56) und der Proben aus den gereinigten und desinfizierten Mastabteilen (R + D) (n = 84). Aufgeführt sind die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Test nach Pearson und der Risikoschätzung (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien; OR = Odds-Ratio).....54

Tabelle 22: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Futtertrog-Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)57

Tabelle 23: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Buchtenwand-Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)59

Tabelle 24: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Proben der Nippeltränken aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)61

Tabelle 25: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Wischproben der Beschäftigungsmaterialien aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)63

Tabelle 26: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Wischproben der Stiefel aus der ersten Beprobung (vorher) und der zweiten Beprobung (nachher)65

Tabelle 27: Minimum, Maximum, Mittelwert und Standardabweichung der Ct-Werte der Wischproben der Treibbretter aus der ersten Beprobung (vorher) und der zweiten Beprobung (nachher).....66

IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

*Abbildung 1: Nachweisraten (in %) der PCV2-DNA-positiven und -negativen Proben der untersuchten Gegenstände (n = 60; *n = 20) (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien)..... 37*

Abbildung 2: Unterteilung (in %) der ermittelten Ct-Werte (n = 280) aus PCV2-positiven Beständen (n = 10) in vier Ct-Wert-Kategorien (Kategorie I: negativ ($Ct \geq 40$), Kategorie II: schwach positiv ($Ct = 35 - 39,9$), Kategorie III: positiv ($Ct = 30 - 34,9$), Kategorie IV: deutlich positiv ($Ct < 30$)) 38

*Abbildung 3: Nachweisraten (in %) der positiven Proben aus den PCV2-positiven Betrieben (n = 10) im Vorher-Nachher-Vergleich, aufgeführt für die sechs untersuchten Gegenstands-Gruppen (n = 30; *n = 10) (Beschäft.-mat. = Beschäftigungsmaterialien) 39*

Abbildung 4: Verteilung der Ct-Werte der Futtertröge (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Futtertrog-Poolprobe dar 56

Abbildung 5: Verteilung der Ct-Werte der Buchtenwände (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Poolproben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Buchtenwand-Poolprobe dar .. 58

Abbildung 6: Verteilung der Ct-Werte der Nippeltränken (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Wischprobe dar..... 60

Abbildung 7: Verteilung der Ct-Werte der Beschäftigungsmaterialien (n = 30) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen.....62

Abbildung 8: Verteilung der Ct-Werte der Stiefel (n = 10) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten (nachher) Abteilen. Ein Punkt stellt eine Probe dar. Der Ct-Wert der zweiten Probe (nachher = grauer Punkt) des Treibbretts 5 unterscheidet sich um 0,04 zur ersten Probe (vorher = roter Punkt) und ist daher in der Grafik nicht sichtbar.....64

Abbildung 9: Verteilung der Ct-Werte der Treibbretter (n = 10) aus den PCV2-positiven Beständen (n = 10) vergleichend für die Proben aus den ungereinigten (vorher) und den gereinigten und ggf. desinfizierten Abteilen (nachher)66

X. LITERATURVERZEICHNIS

Albina E, Truong C, Hutet E, Blanchard P, Cariolet R, Mahé D, Allée C, Morvan H, Amenna N, Le Dimna M. An experimental model for post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in growing piglets. *Journal of Comparative Pathology* 2001; 125: 292-303.

Allan G, Phenix K, Todd D, McNulty M. Some biological and physico-chemical properties of porcine circovirus. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 1994; 41: 17-26.

Allan G, McNeilly F, Kennedy S, Daft B, Ellis J, Haines D, Meehan B, Adair B. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1998; 10: 3-10.

Allan G, Mc Neilly F, Meehan B, Kennedy S, Mackie D, Ellis J, Clark E, Espuna E, Saubi N, Riera P. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Veterinary Microbiology* 1999; 66: 115-123.

Andraud M, Grasland B, Durand B, Cariolet R, Jestin A, Madec F, Rose N. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV-2) within-and between-pen transmission in pigs. *Veterinary Research* 2008; 39: 43.

Backhans A, Sjölund M, Lindberg A, Emanuelson U. Biosecurity level and health management practices in 60 Swedish farrow-to-finish herds. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2015; 57: 14.

Beisl M. Randomisierte Querschnittsuntersuchung über die Prävalenz des porzinen Circovirus Typ 2 und zugehöriger Genotypen in deutschen Schweinemastbeständen mittels Oral Fluids. 2020. Diss. med. vet. Ludwig-Maximilians-Universität München.

Bode K, Baier S, Blaha T. Specific cleaning and disinfection procedures for Salmonella infected pig herds. Proceedings of the 13th International Congress in Animal Hygiene (ISAH) 2007, Tartu, Estonia; 500-506.

Böhm R. Disinfection and hygiene in the veterinary field and disinfection of animal houses and transport vehicles. International Biodeterioration & Biodegradation 1998; 41: 217-224.

Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GP, Hamel AL. Postweaning multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrum-deprived piglets with type 2 porcine circovirus. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2001; 13: 185-194.

Brunborg IM, Moldal T, Jonassen CM. Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. Journal of Virological Methods 2004; 122: 171-178.

Bundesministerium für Justiz und Verbraucherschutz. Verordnung zum Schutz landwirtschaftlicher Nutztiere und anderer zur Erzeugung tierischer Produkte gehaltener Tiere bei ihrer Haltung. 2001: <https://www.gesetze-im-internet.de/tierschnutztv/TierSchNutztV.pdf>. Accessed: 16.09.2020.

Chung W-B, Chan W-H, Chaung H-C, Lien Y, Wu C-C, Huang Y-L. Real-time PCR for quantitation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 in naturally-infected and challenged pigs. Journal of Virological Methods 2005; 124: 11-19.

Crowther R, Berriman J, Curran W, Allan G, Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. Journal of Virology 2003; 77: 13036-13041.

Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft. DVG-Desinfektionsmittelliste für den Tierhaltungsbereich. 2020: <http://www.desinfektion-dvg.de/index.php?id=2150>. Accessed: 21.07.2020.

Díaz Cao JM, Prieto A, López G, Fernández-Antonio R, Díaz P, López C, Remesar S, Díez-Baños P, Fernández G. Molecular assessment of visitor personal protective equipment contamination with the Aleutian mink disease virus and porcine circovirus-2 in mink and porcine farms. *PloS One* 2018; 13: e0203144.

Dupont K, Hjulsgaard CK, Kristensen C, Baekbo P, Larsen LE. Transmission of different variants of PCV2 and viral dynamics in a research facility with pigs mingled from PMWS-affected herds and non-affected herds. *Veterinary Microbiology* 2009; 139: 219-226.

Dvorak CM, Lilla MP, Baker SR, Murtaugh MP. Multiple routes of porcine circovirus type 2 transmission to piglets in the presence of maternal immunity. *Veterinary Microbiology* 2013; 166: 365-374.

Dvorak CM, Yang Y, Haley C, Sharma N, Murtaugh MP. National reduction in porcine circovirus type 2 prevalence following introduction of vaccination. *Veterinary Microbiology* 2016; 189: 86-90.

Eddicks M, Koeppen M, Willi S, Fux R, Reese S, Sutter G, Stadler J, Ritzmann M. Low prevalence of porcine circovirus type 2 infections in farrowing sows and corresponding pre-suckling piglets in southern German pig farms. *Veterinary Microbiology* 2016; 187: 70-74.

Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *The Canadian Veterinary Journal* 1998; 39: 44-51.

Europäische Kommission. Empfehlung (EU) 2016/336 der Kommission zur Anwendung der Richtlinie 2008/120/EG des Rates über Mindestanforderungen für den Schutz von Schweinen im Hinblick auf die Verringerung der Notwendigkeit, den Schwanz zu kupieren 2016: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016H0336&from=DE>. Accessed: 03.10.2020.

Fort M, Sibila M, Allepuz A, Mateu E, Roerink F, Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins. *Vaccine* 2008; 26: 1063-1071.

Gagnon CA, Del Castillo JR, Music N, Fontaine G, Harel J, Tremblay D. Development and use of a multiplex real-time quantitative polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of Porcine circovirus-2 genotypes 2a and 2b in an epidemiological survey. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2008; 20: 545-558.

Garrido-Mantilla J, Alvarez J, Culhane M, Nirmala J, Cano JP, Torremorell M. Comparison of individual, group and environmental sampling strategies to conduct influenza surveillance in pigs. *BMC Veterinary Research* 2019; 15: 61.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana ÂM, Lobato ZI. Serum antibodies and shedding of infectious porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *The Veterinary Journal* 2011; 188: 240-242.

Gotter V, Blaha T, Klein G. A case-control study on the occurrence of *Salmonella* spp. in the environment of pigs. *Epidemiology & Infection* 2012; 140: 150-156.

Grau-Roma L, Hjulsgaard CK, Sibila M, Kristensen CS, López-Soria S, Enøe C, Casal J, Bøtner A, Nofrarías M, Bille-Hansen V. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Veterinary Microbiology* 2009; 135: 272-282.

Hamel AL, Lin LL, Nayar GP. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *Journal of Virology* 1998; 72: 5262-5267.

Harding JC, Clark EG. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Journal of Swine Health and Production* 1997; 5: 201-203.

Harding JC. The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2. *Veterinary Microbiology* 2004; 98: 131-135.

Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research* 1996; 6: 986-994.

Kahrs R. General disinfection guidelines. *Revue Scientifique et Technique-office International des Epizooties* 1995; 14: 105-122.

Kenney K, Polson D. Validation of Swiffer cloth-origin neutralizing broth samples for detection of PRRS virus in the environment. 42nd American Association of Swine Veterinarians Annual Meeting 2011, Phoenix, Arizona; 95-107.

Krug PW, Lee LJ, Eslami AC, Larson CR, Rodriguez L. Chemical disinfection of high-consequence transboundary animal disease viruses on nonporous surfaces. *Biologicals* 2011; 39: 231-235.

Krug PW, Davis T, O'Brien C, LaRocco M, Rodriguez LL. Disinfection of transboundary animal disease viruses on surfaces used in pork packing plants. *Veterinary Microbiology* 2018; 219: 219-225.

Larochelle R, Antaya M, Morin M, Magar R. Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR. *Journal of Virological Methods* 1999; 80: 69-75.

Liu J, Chen I, Kwang J. Characterization of a previously unidentified viral protein in porcine circovirus type 2-infected cells and its role in virus-induced apoptosis. *Journal of Virology* 2005; 79: 8262-8274.

Liu J, Chen I, Du Q, Chua H, Kwang J. The ORF3 protein of porcine circovirus type 2 is involved in viral pathogenesis in vivo. *Journal of Virology* 2006; 80: 5065-5073.

Liu Q, Wang L, Willson P, Babiuk LA. Quantitative, competitive PCR analysis of porcine circovirus DNA in serum from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38: 3474-3477.

López-Lorenzo G, Díaz-Cao JM, Prieto A, López-Novo C, López CM, Díaz P, Rodríguez-Vega V, Díez-Baños P, Fernández G. Environmental distribution of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) in swine herds with natural infection. *Scientific Reports* 2019; 9: 1-8.

Lukert P, De Boer G, Dale J, Keese P, McNulty M, Randles J, Tischer I. The Circoviridae. In: *Virus Taxonomy*: Springer-Verlag 1995: 166-168.

Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Research* 2002; 30: 1292-1305.

Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Blanchard P, Cariolet R, Amenna N, Morvan H, Truong C, Mahé D. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs in France: clinical observations from follow-up studies on affected farms. *Livestock Production Science* 2000; 63: 223-233.

Madec F, Rose N, Grasland B, Cariolet R, Jestin A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome and other PCV2-related problems in pigs: a 12-year experience. *Transboundary and Emerging Diseases* 2008; 55: 273-283.

Madson D, Patterson A, Ramamoorthy S, Pal N, Meng X, Opriessnig T. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Veterinary Pathology* 2009; 46: 707-716.

Martin H, Le Potier M-F, Maris P. Virucidal efficacy of nine commercial disinfectants against porcine circovirus type 2. *The Veterinary Journal* 2008; 177: 388-393.

McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 1999; 12: 147-179.

Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM, Allan GM. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *Journal of General Virology* 1998; 79: 2171-2179.

Mengeling W, Paul P. Interepizootic survival of porcine parvovirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1986; 188: 1293-1295.

Moorkamp L, Revermann C, Fiebig K, Seedorf J, Ladinig A. PRRSV type 1 transmission via piglet trailers - relevance for spreading? *Expertise* 2018 2018, Unterschleißheim, Deutschland.

Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In: *Methods in Enzymology*: Elsevier 1987: 335-350.

Nawagitgul P, Morozov I, Bolin SR, Harms PA, Sorden SD, Paul PS. Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein. *Journal of General Virology* 2000; 81: 2281-2287.

Nienhoff H, Tabeling R, Kercher R, Pausenberger A, Strutzberg-Minder K. Investigations on the use of Swiffer® sampling to detect different respiratory pathogens via environmental sample collection in pigbarns. 5th European Symposium of Porcine Health Management 2013, Edinburgh, United Kingdom; 126.

O'Dea MA, Hughes AP, Davies LJ, Muhling J, Buddle R, Wilcox G. Thermal stability of porcine circovirus type 2 in cell culture. *Journal of Virological Methods* 2008; 147: 61-66.

Opriessnig T, Halbur PG. Recent Advances in Research Related to Porcine Circovirus Type 2. George A. Young Swine Health and Management Conference 2006, Sioux City, Nebraska; 1-10.

Patterson A, Ramamoorthy S, Madson D, Meng X, Halbur P, Opriessnig T. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection. *Veterinary Microbiology* 2011a; 149: 91-98.

Patterson AR, Baker RB, Madson DM, Pintar AL, Opriessnig T. Disinfection protocols reduce the amount of porcine circovirus type 2 in contaminated 1: 61 scale model livestock transport vehicles. *Journal of Swine Health and Production* 2011b; 19: 156-164.

Pitkin A, Deen J, Dee S. Further assessment of fomites and personnel as vehicles for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2009; 73: 298-302.

Prange H. Reinigung und Desinfektion. In: *Gesundheitsmanagement Schweinehaltung* Eugen Ulmer 2004: 257-271.

Prickett J, Johnson J, Murtaugh M, Puvanendiran S, Wang C, Zimmerman J, Opriessnig T. Prolonged Detection of PCV2 and Anti-PCV2 Antibody in Oral Fluids Following Experimental Inoculation. *Transboundary and Emerging Diseases* 2011; 58: 121-127.

Prickett JR, Kim W, Simer R, Yoon K-J, Zimmerman J. Oral-fluid samples for surveillance of commercial growing pigs for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections. *Journal of Swine Health and Production* 2008; 16: 86-91.

Rosario K, Breitbart M, Harrach B, Segalés J, Delwart E, Biagini P, Varsani A. Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. *Archives of Virology* 2017; 162: 1447-1463.

Rose N, Opriessnig T, Grasland B, Jestin A. Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Research* 2012; 164: 78-89.

Royer RL, Nawagitgul P, Halbur PG, Paul PS. Susceptibility of porcine circovirus type 2 to commercial and laboratory disinfectants. *Journal of Swine Health and Production* 2001; 9: 281-284.

Schmoll F, Lang C, Steinrigl A, Schulze K, Kauffold J. Prevalence of PCV2 in Austrian and German boars and semen used for artificial insemination. *Theriogenology* 2008; 69: 814-821.

Schneider P, Holtkamp D, Cano J, Polson D. Survey of transport vehicle decontamination practices for PRRSV in the US swine industry. 42nd American Association of Swine Veterinarians Annual Meeting 2011, Phoenix, Arizona; 83-86.

Segales J, Sitjar M, Domingo M, Dee S, Pozo Md, Noval R, Sacristan C, Heras A, Ferro A, Latimer K. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain. *Veterinary Record* 1997; 141: 600-601.

Segalés J, Calsamiglia M, Olvera A, Sibila M, Badiella L, Domingo M. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Veterinary Microbiology* 2005a; 111: 223-229.

Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Animal Health Research Reviews* 2005b; 6: 119-142.

Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research* 2012; 164: 10-19.

Shibata I, Okuda Y, Yazawa S, Ono M, Sasaki T, Itagaki M, Nakajima N, Okabe Y, Hidejima I. PCR detection of porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases. *Journal of Veterinary Medical Science* 2003; 65: 405-408.

Shibata I, Okuda Y, Kitajima K, Asai T. Shedding of porcine circovirus into colostrum of sows. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 2006; 53: 278-280.

Sibila M, Calsamiglia M, Segalés J, Blanchard P, Badiella L, Le Dimna M, Jestin A, Domingo M. Use of a polymerase chain reaction assay and an ELISA to monitor porcine circovirus type 2 infection in pigs from farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research* 2004; 65: 88-92.

Sinha A, Shen H, Schalk S, Beach N, Huang Y, Meng X, Halbur P, Opriessnig T. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) influences infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) subtypes PCV2a and PCV2b by prolonging PCV2 viremia and shedding. *Veterinary Microbiology* 2011; 152: 235-246.

Tischer I, Rasch R, Tochtermann G. Characterization of papovavirus and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. Erste Abteilung Originale. Reihe A: Medizinische Mikrobiologie und Parasitologie* 1974; 226: 153-167.

Tischer I, Gelderblom H, Vettermann W, Koch M. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature* 1982; 295: 64-66.

Tischer I, Miels W, Wolff D, Vagt M, Griem W. Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of Virology* 1986; 91: 271-276.

Welch J, Bienek C, Gomperts E, Simmonds P. Resistance of porcine circovirus and chicken anemia virus to virus inactivation procedures used for blood products. *Transfusion* 2006; 46: 1951-1958.

Yilmaz A, Kaleta E. Evaluation of virucidal activity of three commercial disinfectants and formic acid using bovine enterovirus type 1 (ECBO virus), mammalian orthoreovirus type 1 and bovine adenovirus type 1. *The Veterinary Journal* 2003; 166: 67-78.

Yilmaz A, Kaleta E. Disinfectant tests at 20 and 10 degrees C to determine the virucidal activity against circoviruses. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 2004; 111: 248-251.

Zewde BM, Robbins R, Abley MJ, House B, Morgan Morrow W, Gebreyes WA. Comparison of Swiffer wipes and conventional drag swab methods for the recovery of Salmonella in swine production systems. Journal of Food Protection 2009; 72: 142-146.

Zhao K, Han F, Zou Y, Zhu L, Li C, Xu Y, Zhang C, Tan F, Wang J, Tao S. Rapid detection of porcine circovirus type 2 using a TaqMan-based real-time PCR. Virology Journal 2010; 7: 374.

XI. ANHANG

Fragebogen

Betriebsdaten

Name: _____ Tierarzt: _____

Betriebsart

☐ geschlossenes System ☐ ausschließlich Mast

Betriebsmanagement

Belegung: ☐ kontinuierlich

☐ Rein-Raus

☐ Stallweise ☐ Abteilweise ☐ Buchtenweise

Reinigung

Grobe Vorreinigung: (z.B. Decken mit Besen kehren, Spinnenweben entfernen)

Einweichen: ☐ ja, Dauer: _____

☐ nein

☐ Einweichenanlage, Dauer: _____

☐ Einweichschaum, Dauer: _____

Vorwäsche: ☐ ja, wie _____ ☐ nein

Wasser: ☐ Eigener Brunnen ☐ Kommunal

☐ kalt ☐ warm, Temp: _____ °C

☐ Hochdruckreiniger

Desinfektion

Zeit zwischen Reinigung und Desinfektion: _____

Temperaturkontrolle vor Desinfektion: ☐ ja ☐ nein

Desinfektionsmittel: _____

Einwirkdauer: _____

Konzentration/Verdünnung: _____

Anwendung: ☐ flüssig ☐ schaumig

Anwender: ☐ internes Personal, wer _____

☐ extern _____

Desinfektion der Gülle: ☐ ja ☐ nein

Schadnagerbekämpfung:

☐ ja ☐ nein

☐ intern _____ ☐ extern _____

Fliegenbekämpfung:

☐ ja ☐ nein

XII. DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich ganz besonders bei meinem Doktorvater Professor Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung dieses interessanten Themas und die schöne und lehrreiche Zeit an der Klinik für Schweine bedanken.

Ebenfalls bedanke ich mich ganz herzlich bei Dr. med. vet. habil. Matthias Eddicks für die fachliche Betreuung dieser Arbeit, das stets offene Ohr für meine Anliegen und die lehrreichen und erheiternden Worte.

Ein großes Dankeschön geht auch an Dr. Robert Fux und das Team des Lehrstuhls für Virologie der LMU München für die Unterstützung und die geduldige Hilfe bei der Durchführung der labordiagnostischen Untersuchungen.

Mein Dank gilt ebenfalls der Firma Zoetis Deutschland GmbH für die Bereitstellung der finanziellen Mittel zur Durchführung dieser Studie.

Ich bedanke mich auch bei den Landwirten der zwölf Studienbetriebe für das entgegengebrachte Vertrauen und die offenen Stalltüren. Nur dank ihrer Bereitschaft konnte diese Studie realisiert werden.

Ein weiterer ganz besonderer Dank geht an all meine Kolleginnen und Kollegen der Klinik für Schweine, auch den bereits ausgeschiedenen. Vielen Dank für eure tatkräftige Unterstützung im Stall, die unterhaltsamen Autofahrten und dass ihr mir geduldig beim Putzen zugeschaut habt. Marina, danke für deinen unermüdlichen Einsatz am Telefon, die hochdeutsch-bayerischen Übersetzungen und die tolle, motivierende Zusammenarbeit. Danke liebe Steffi, für die großartige Hilfe am Schreibtisch. Ein weiterer Dank geht an Sigena (und Fritz) für die gemeinsamen Stunden im Büro und die vielen fachlichen als auch nicht-fachlichen Anekdoten.

Meiner Schwägerin Franzi danke ich besonders für das fleißige Lesen meiner Doktorarbeit und die hilfreichen Korrekturen.

Zu guter Letzt möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Familie bedanken, vor allem bei meinen Eltern. Ohne eure bedingungslose und immerwährende Unterstützung hätte ich die letzten acht Jahre nicht meistern können. Vielen Dank, dass ihr immer für mich da seid und ihr mir diesen beruflichen Weg ermöglicht habt!